

---

**TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI**  
Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií

Studijní program: B3942 – Nanotechnologie  
Studijní obor: 3942R002 – Nanomateriály

**Studium vlivu tvaru nanovláknenného nosiče na  
účinnost biodegradačního procesu  
v hybridním bioreaktoru**

**The influence of nanofiber carrier size and shape on  
the performance of the hybrid bioreactor**

**Bakalářská Práce**

Autor:	<b>Dominika Kortusová</b>
Vedoucí práce:	Ing. Lucie Křiklavová
Konzultant:	Ing. Tomáš Lederer, Ph.D.

V Liberci 18. 05. 2012

---



## **Prohlášení**

Byla jsem seznámena s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím diplomové práce a konzultantem.

Datum

Podpis

## **Poděkování**

Nejprve bych ráda poděkovala Ing. Lucii Křiklavové za podnětné rady, tipy a komentáře, které rozvíjely mou práci a směřovaly ji ke zdárnému konci. Pod jejím vedením byla radost pracovat. Dále bych chtěla poděkovat všem studentům a pracovníkům NTI, se kterými jsem se setkávala v laboratoři sanačních technologií, za jejich pomoc a neustálé pozitivní naladění. V neposlední řadě moc děkuji své rodině za podporu při studiu.

## Abstrakt

Tato práce se zabývá biologickým čištěním odpadních vod zatížených fenoly za využití nanotechnologie jako jednoho z moderních přístupů. První část práce se zabývá rešerší, která měla za cíl najít podobný typ nosiče bakteriální populace na světě. Na základě rešerše vznikl návrh a samotná tvorba nanovlákných nosičů biomasy a selekce nejvhodnější textilní mikrostruktury pro fluidní a fixní lože.

Druhá část práce pojednává o provozu laboratorních modelů biofilmových reaktorů s vybranými typy nosičů. Reaktory byly provozovány kontinuálně a inokulovány bakteriemi rodu *Rhodococcus erythropolis*, které byly selektovány a adaptovány na dané znečištění na VŠCHT v Praze. Celkem byly provozovány čtyři reaktory s fluidním ložem – tři s nově vyvinutými nanovláknými nosiči, jeden s komerčně dostupnými nosiči AnoxKaldnes K3 pro porovnání účinnosti reaktorů. Dále byly testovány tři reaktory s fixním ložem.

Výsledky ukázaly, že nosiče s nanovláknou aplikací jsou vhodným médiem pro biologické čištění odpadních vod vykazujícím stabilní účinnost degradace polutantu a vysokou aktivitu bakteriální kultury.

**Klíčová slova:** biodegradace, MBBR, nanovlákná technologie, nosiče biomasy, čištění odpadních vod

## **Abstract**

This thesis deals with biological treatment of waste water containing phenols by using nanotechnology as one of the modern approach. The first part is about research which was aimed to find similar type of biofilm carrier in the world. Based on the research, novel nanofiber biomass carriers were designed and created. Afterwards the best structures for moving and fixed biofilm reactor were selected.

The second part deals with laboratory experiments made on model biofilm reactors with selected carriers. These were run continuously and inoculated with bacteria *Rhodococcus erythropolis*, which were selected and adapted on phenolic waste water on VŠCHT in Prague. In total four moving bed reactor were run – three with novel nanofiber carriers, one with commercially available AnoxKaldnes K3 carriers to compare the efficiency of all reactors. Finally three fixed-bed biofilm reactors were tested.

The results showed that carriers with nanofiber application are suitable for biological waste water treatment with stable efficiency of pollutant degradation and high bacterial activity.

**Keywords:** biodegradation, MBBR, nanofiber technology, biomass carriers, waste water treatment

## Obsah

<b>Prohlášení .....</b>	<b>3</b>
<b>Poděkování.....</b>	<b>4</b>
<b>Abstrakt .....</b>	<b>5</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>6</b>
<b>Obsah .....</b>	<b>7</b>
1 Úvod.....	9
<b>Teoretická část.....</b>	<b>11</b>
2 Biofilm .....	11
2.1 Vznik biofilmu .....	11
2.2 Vlastnosti biofilmu.....	11
3 Použití bakterií a biofilmu při čištění odpadních vod .....	12
3.1 Zkrápěné biologické kolony.....	12
3.2 Aktivovaný kal.....	12
3.3 MBBR .....	12
3.3.1 Historie MBBR .....	13
3.3.2 Popis MBBR .....	13
3.4 Nosiče biomasy .....	14
3.4.1 Nosiče AnoxKaldnes.....	14
3.4.2 PE nosiče od jiných výrobců.....	15
3.4.3 Keramické nosiče biomasy .....	17
3.4.4 Nanovláknenné nosiče .....	17
3.5 Vývoj nanovláknenných nosičů na TUL.....	18
<b>Praktická část - materiály a metody.....</b>	<b>21</b>
4 Užití metody měření .....	21
4.1 Stanovení CHSK .....	21
4.2 Stanovení fenolů .....	21
4.3 Absorbance.....	21
4.4 pH.....	21
4.5 Vodivost, konduktivita.....	22
4.6 Kyslík a respirace.....	22
<b>Praktická část – reaktory a nosiče .....</b>	<b>24</b>
5 Mikroorganismy .....	24
5.1 Rhodococcus erythropolis.....	24
6 Reaktory .....	24
6.1 Reaktory s fluidními nosiči .....	25
6.2 Reaktory s fixními nosiči .....	25
7 Nosiče biomasy .....	26
7.1 Fluidní nosiče biomasy .....	26

7.2	Vývoj vlastních nosičů .....	26
7.2.1	Soudkovité nosiče .....	26
7.2.2	Nosiče ve formě uzlíků .....	28
7.2.3	Kónické nosiče .....	29
7.3	Výběr fluidních nosičů pro laboratorní testy.....	29
7.4	Fixní nosiče biomasy.....	30
<b>Praktická část – výsledky a jejich diskuze .....</b>		<b>31</b>
8	Výsledky pro fluidní nosiče biomasy.....	31
8.1	Vstupní modelová voda.....	31
8.2	Objemové zatížení.....	31
8.3	CHSK .....	32
8.4	Optická denzita .....	34
8.5	pH.....	34
8.6	Vodivost.....	35
8.7	Sušina .....	36
8.8	Respirace .....	36
9	Výsledky pro fixní nosiče biomasy .....	39
9.1	Vstup do reaktorů.....	39
9.2	pH.....	39
9.3	Optická denzita .....	39
9.4	Měrná vodivost .....	40
9.5	Sušina .....	41
9.6	Respirace .....	41
<b>Závěr .....</b>		<b>43</b>
<b>Literatura.....</b>		<b>44</b>



# 1 Úvod

Nanotechnologie jsou jedním z nejrychleji se rozvíjejícím odvětvím dnešní doby. Začínají pronikat do téměř všech oblastí lidské činnosti od lékařství přes vojenský i civilní průmysl až k předmětům denní potřeby. Do sféry jejich uplatnění patří prakticky cokoli, co si lze představit. Není proto divu, že se nanotechnologie začínají uplatňovat při biologickém čištění odpadních vod, ve kterém tvoří základ biodegradační procesy.

K těmto účelům se využívá mikroorganismů, které mohou být použity ve formě suspenze či souvislé vrstvy (biofilmu). Technologie využívající biofilm jsou účinnější, neboť mikrobiální kultura ve formě biofilmu má větší odolnost proti toxickým chemickým podmínkám ve svém okolí než volně rozptýlené mikroorganismy.

Na Technické univerzitě v Liberci ve spolupráci několika fakult už několik let probíhá výzkum v této oblasti sanačních technologií. Je zde snaha využít nanovlákně technologie pro biologické čištění odpadních vod ve formě nových nosičů biomasy. Nanovlákně nosiče biofilmu už prošly sadou mnoha laboratorních testů a v současné době se testují na reálných lokacích.

První, teoretická část práce se zabývá biofilmem a biologickým čištěním odpadních vod, především technologií MBBR. Ta je založena na plovoucích nosičích biofilmu, které se tato práce snaží zmapovat a utřídit do přehledného seznamu.

Praktická část je rozdělena na tři oddíly. První oddíl tvoří popis materiálů a metod využitých v laboratorních experimentech ke sledování průběhu kolonizace nosičů, jejich reakci na modelové znečištění a účinnosti degradačních procesů. Druhý oddíl popisuje návrh a tvorbu nově vyvinutých nosičů a mikrobiální populaci vybranou k jejich inokulaci. Je zde též popsáno sestavení laboratorních experimentů a podmínky, za kterých byly provozovány a vyhodnocovány. Poslední oddíl se zabývá výsledky laboratorního testování a hodnocením sledovaných charakteristik experimentů. Tento oddíl je rozdělen do dvou částí – fluidní a fixní nosiče. Důvodem k oddělenému hodnocení bylo především rozdílné sestavení a podmínky provozu fixních a fluidních reaktorů.

Hlavními cíli této práce jsou:

- Zpracování literární rešerše k možnostem využití polymerních a textilních kompozitů jako nosiče biomasy při čištění odpadních vod.
- Vytvoření přehledné databáze současných polymerních a textilních nosičů.

- Výběr (návrh) a praktické vytvoření mikrostruktury nanovlákných nosičů pro fluidní a fixní lože.
- Selektce nejvhodnější mikrostruktury a zpracování dokumentace.

## **Teoretická část**

### **2 Biofilm**

Biofilm je složité seskupení mikroorganismů, nejčastěji bakterií, rostoucí na pevném podkladě – obvykle pevných látkách ponořených ve vodných roztocích. V přírodě je biofilm velmi běžný. Můžeme se s ním setkat například v řekách jako s kluzkým povlakem kamenů nebo i na lidských či zvířecích zubech ve formě zubního plaku.

#### **2.1 Vznik biofilmu**

Tvorba biofilmu začíná uchycením volně plovoucích bakterií na povrchu pevných předmětů. Toto zachycení je realizováno slabými van der Waalsovými silami. Pokud nejsou kolonizující bakterie ihned odděleny, začínají zvyšovat adhezi vylučováním hustého polymerního roztoku. Tato lepivá matice vytváří jakousi kostru celého systému a umožňuje kolonizaci dalším bakteriím. Tyto tvoří druhou vrstvu, která je ukotvena přímo na prvních bakteriích, které započaly kolonizaci, či právě na lepivé matici. Jakmile nárůst biofilmu započne, je dál udržován buněčným dělením a zachycováním dalších volně plovoucích bakterií. [12][16]

#### **2.2 Vlastnosti biofilmu**

Bakterie žijící v biofilmu mají odlišné vlastnosti než ty volně rozptýlené v roztoku. Toto husté a uspořádané prostředí jim umožňuje spolupracovat a komunikovat pomocí chemických a fyzikálních signálů. Bylo zjištěno, že některé biofilmy obsahují síť vodních kanálků pro distribuci živin a odvod metabolitů. Jednou z největších výhod je však větší odolnost biofilmu proti vnějším vlivům jako jsou například čistící prostředky, antibiotika či jiná toxická znečištění. Většina bakteriální komunity je zde chráněná právě hustou extracelulární maticí a též vrchní vrstvou bakterií, která se liší aktivitou i velikostí od zbytku komunity díky lepšímu přístupu kyslíku a živin. [12][16]

### **3 Použití bakterií a biofilmu při čištění odpadních vod**

#### **3.1 Zkrápěné biologické kolony**

Historicky první technikou čištění odpadních vod využívající biofilmu jsou zkrápěné biologické kolony (nazývané též zkrápěcí filtry, trickling filters) pocházející z konce 19. století. Zkrápěná biologická kolona je válcová nádrž vyplněná pevným materiálem, nejčastěji dřevem, šterkem, keramikou či v moderní době plasty. Čištěná voda je distribuována na vrchol nádrže, kde je rovnoměrně rozstříkována po povrchu náplně. Postupem času se na náplni kolony vytvoří biofilm, který aerobně metabolizuje organické znečištění. Tato metoda je účinná a spolehlivá, ale vykazuje nedostatky v podobě ucpávání přírodního systému čištění vody i náplně uvnitř kolony. Je též velmi citlivá na přesné dávkování vody, neboť mikroorganismy mohou při nedostatečném zkrápění vysychat a odumírat. Tyto chyby lze částečně odstranit mechanickým předčištěním například v sedimentačních nádržích či filtraci. Provoz takového zařízení je však poměrně drahý. [3][17]

#### **3.2 Aktivovaný kal**

Další zajímavou technikou biologického čištění odpadních vod je metoda aktivovaného kalu. Byla vyvinuta kolem roku 1914 a je dodnes nejpoužívanější biologickou metodou. Jejím základem je aerační nádrž, ve které je provzdušňována volně rozptýlená směsná kultura mikroorganismů – především různých druhů bakterií, které se za optimálních podmínek shlukují do dobře sedimentujících vloček. Do této nádrže se přivádí čištěná voda, ze které mikroorganismy biologickými přeměnami odstraňují polutanty. Tato metoda je velmi jednoduchá na zapracování i provoz, ale trpí několika vadami. Hlavním nedostatkem je nadměrné shlukování kalu zapříčiněné růstem vláknitých bakterií, které vede ke snížení účinnosti celého procesu. Systém je též náchylný na změny ve složení čištěné vody a na rychlosti průtoku, což může být v reálných odpadních vodách problémem například při havarijních a extrémních nárazových stavech, které jsou v průmyslové praxi velice časté. [3][17]

#### **3.3 MBBR**

Moderní technologií, která snoubí výhody obou výše zmíněných metod, je tzv. MBBR – moving bed biofilm reactor (česky překládána jako metoda fluidního lože). Základem této metody jsou malé fluidní nosiče s velkým měrným povrchem, na kterých se zachytávají mikrobiální kultury a vytvářejí zde biofilm. Tyto nosiče jsou

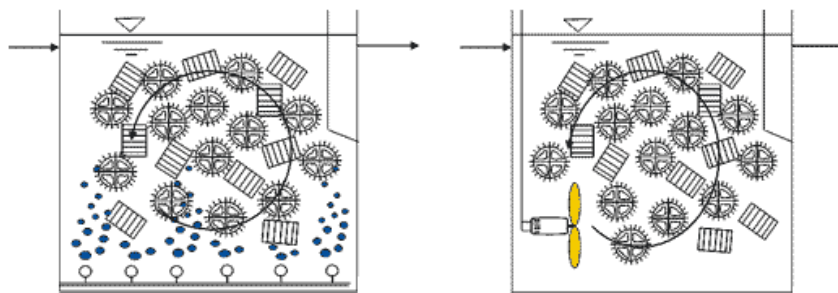
rozptýleny a míchány v celém objemu reaktoru, a tím dochází k výraznému zvýšení sféry působnosti mikroorganismů, což vede ke zvýšení účinnosti celého procesu. [14]

### **3.3.1 Historie MBBR**

Tato technologie byla vyvinuta na přelomu osmdesátých a devadesátých let 20. století v Norsku jako výsledek spolupráce Norské univerzity vědy a technologie (NTNU) a norskou SINTEF – „Nadací pro vědecký a průmyslový výzkum“. Hlavní myšlenkou spolupráce bylo právě spojení výhod dostupných biologických sanačních technologií. Z výzkumu vzešel nový bioreaktor – the Moving Bed™ biofilm reactor (MBBR™), který je chráněn několika patenty (Evropský patent Sb. 0.575.314, USA patent Sb. 5.458.779). Dal též v roce 1989 vzniknout společnosti Kaldnes Miljøteknologi AS, která získala s technologií MBBR™ komerční úspěch. Ta byla v roce 1994 koupena společností Anglian Water za účelem globalizování této pokrokové technologie. Ve stejném roce společnost Anox AB vyvinula na základě MBBR™ novou metodu pro průmyslové aplikace zejména ve zpracování celulózy a výrobě papíru. Tyto dvě společnosti se staly lídry v moderním biologickém čištění odpadních vod a v roce 2000 spolu navázaly spolupráci. V roce 2002 byla Kaldnes prodána Anox AB a tato fúze byla stvrzena přejmenováním firmy na AnoxKaldnes v roce 2004. Od roku 2007 je součástí nadnárodní firmy Veolia Water Solutions & Technologies Inc., která je největší světovou firmou v oblasti vodních zdrojů. V současnosti je technologie MBBR™ používána ve více než padesáti zemích světa a to ve více než šesti stech jednotlivých reaktorech (data z roku 2009 - McQuarrie, 2011). [7][11][13]

### **3.3.2 Popis MBBR**

Základním principem této metody je růst biofilmu na speciálních nosičích, které se volně pohybují v reaktoru. Pohyb nosičů je zajištěn buď aeračním systémem (tzv. aerobní reaktory) či mechanickým mícháním (tzv. anoxické reaktory). Právě díky tomuto pohybu je aktivní celý objem reaktoru, což je mezi moderními biologickými metodami unikátní vlastnost. Reaktor je díky tomu čištěn stejnoměrně a efektivita celého procesu je výrazně větší, neboť se na čištění podílí početnější bakteriální populace. [6]



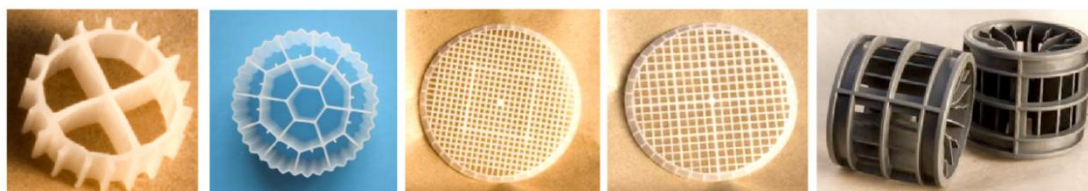
Obr.1: Aerobní (vlevo) a anoxický (vpravo) reaktor MBBR™ [5]

### 3.4 Nosiče biomasy

#### 3.4.1 Nosiče AnoxKaldnes

Originální nosiče AnoxKaldnes jsou vyrobeny z vysoko-densitního polyetylenu (HDPE), jehož hustota je udávána v rozmezí  $0,94-0,98 \text{ g.cm}^{-3}$  a blíží se tedy hustotě vody –  $1 \text{ g.cm}^{-3}$ . Díky tomu se nosiče ve vodném roztoku vznášejí a neklesají ke dnu. Nejsou však natolik lehké, aby nečinně plavaly na hladině. [7]

V AnoxKaldnes už bylo vyvinuto mnoho druhů nosičů. V současné době jich firma dodává na trh pět – K1, K3, BiofilmChip™ M, BiofilmChip™ P a F3 (viz obr.2). Tato různorodost poskytuje flexibilitu k používání nejvhodnějších nosičů v závislosti na charakteristikách odpadních vod, předčištění, odtoku, dostupných objemech a také v závislosti na bakteriích (pro nitrifikace se užívají jiné nosiče než pro běžné ČOV). V praxi nejpoužívanějším je nejmenší a nejstarší z nich, nosič AnoxKaldnes™ K1 neboli K1 Heavy. Je cylindrického tvaru s rozměry 9,1 mm v průměru a 7,2 mm na výšku. Z vnější strany má malé výběžky připomínající lopatky vodního kola. Uvnitř je K1 rozdělen na čtvrtiny křížovým žebrováním. Je to právě zde, v prostoru uvnitř nosiče, kde biofilm roste, neboť je zde chráněn například proti střízným silám vody a vzduchu. Tento nosič poskytuje mikroorganismům specifický chráněný povrch  $500 \text{ m}^2/\text{m}^3$ . [6][7][15]



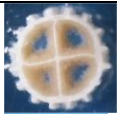

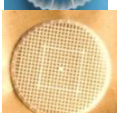
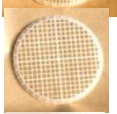








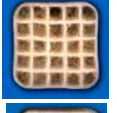


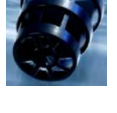
Obr.2: Nosiče AnoxKaldnes – zleva K1, K3, BiofilmChip™ M, BiofilmChip™ P a F3 [6]

Pravděpodobně druhými nejpoužívanějšími nosiči jsou AnoxKaldnes K3. Je to novější modelová řada K1 a je vyrobena ze stejného materiálu. Liší se rozměry a prostorovým uspořádáním – průměr je udáván na 25 mm a výška na 12 mm. Uvnitř jsou navíc K3 mnohonásobně žebrované pro maximalizaci chráněného povrchu, který je však též udáván na 500 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>. [6][7]

### **3.4.2 PE nosiče od jiných výrobců**

Podobné nosiče jako AnoxKaldnes v dnešní době již vyrábí mnoho dalších firem. Je však nutné podotknout, že jde v podstatě vždy jen o variaci již popsaného, neboť všechny komerčně dostupné nosiče jsou vyrobeny z HDPE o hustotě mírně nižší než 1 g/cm<sup>3</sup>. Ani jejich tvar se příliš neliší, vždy jde o cylindrickou buňku či hranol a většina specifického povrchu se nachází na vnitřní straně nosiče. Porovnání parametrů aktuálně dostupných polyethylenových nosičů včetně jejich výrobců viz tab.1 na následující straně. [7]

**Tab.1: Přehled komerčně dostupných polymerních nosičů biomasy a jejich parametrů**

Výrobce	Název nosiče	Specifický povrch	Rozměry (výška; průměr)	Fotografie nosiče
Veolia Inc.	AnoxKaldnes™ K1	500 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	7 mm; 10 mm	
	AnoxKaldnes™ K3	500 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	12 mm; 25 mm	
	AnoxKaldnes™ Biofilm Chip M	1200 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	2 mm; 48 mm	
	AnoxKaldnes™ Biofilm Chip P	900 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	3 mm; 45 mm	
	AnoxKaldnes™ F3	200 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	nezjištěno	
Headworks BIO (licence: Infilco Degremont, Inc.)	ActiveCell™ 450	402 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	15 mm; 22 mm	
	ActiveCell™ 515	485 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	15 mm; 22 mm	
	ActiveCell™ 920	680 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	15 x 15 x 10 mm (v x š x h)	
Aq Wise	ABC4™	600 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	14 mm; 14 mm	
	ABC5™	650 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	12 mm; 12 mm	
Entex Technologies, Inc.	Bioportz™	589 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	14 mm; 18 mm	
Siemens Water Technologies Corp.	CM-10D™	750 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	9 mm; 13 mm	
Biowater Technology	BWT15™	828 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	15 x 15 x 5 mm (v x š x h)	
	BWTX™	640 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	15 x 15 x 10 mm (v x š x h)	
CLV Inc.	EWT™ FlooBed® RF438	190 m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup>	36 mm; 44 mm	
	EWT™ FlooBed® RF127	nezjištěno	nezjištěno	



### 3.4.3 Keramické nosiče biomasy

Přestože jsou nosiče vyrobené z polyetylenu spolehlivé, vědecké týmy po celém světě hledají i jiné alternativy nosičů pro MBBR technologii. Zářným příkladem jsou nové keramické nosiče, který vyvíjí tým složený z pracovníků Keramického institutu v Jingdezhenu a dvou čínských univerzit. Tomuto uskupení se podařilo vyrobit keramické, vysoce porózní nosiče. [1]



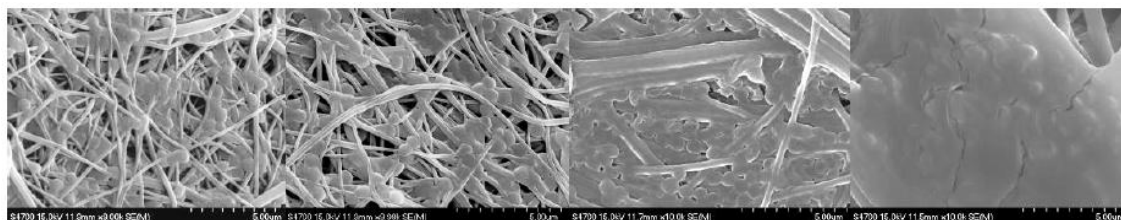
**Obr.3: Keramické nosiče biomasy vyvinuté v Číně [1]**

Základ těchto nosičů tvoří popílek sesbíraný u elektrárny v Jingdezhenu (provincie Jiangxi, Čína), který byl smíchán s destilovanou vodou, akrylamidem (ve formě monomeru), síťovadlem a disperzním činidlem. Tato směs byla intenzivně míchána a rozdělena na dvě poloviny. K jedné z nich byl přimíchán rozdrcený sepiolite – hydrolyzovaný křemičitan hořečnatý -  $Mg_4Si_6O_{15}(OH)_2 \cdot 6(H_2O)$ . Obě hmoty byly za přidání iniciátoru a katalyzátoru polymerizovány. Vzniklá pěna byla ihned přendána do forem, vysušena a následně byla vypálena v plynové peci. Touto cestou byly vyrobeny dva nové, velmi si navzájem podobné, keramické nosiče. Přídavek sepiolitu však způsobil výrazně větší pórovitost nosiče, a tím zvýšil i jeho celkový specifický povrch. Oba nosiče byly laboratorně testovány na čištění odpadní vody znečištěné ropou a dle publikovaných výsledků jsou pro biologické čištění vhodné. [1]

### 3.4.4 Nanovláknenné nosiče

I v České republice se hledá alternativa k polyethylenovým nosičům. Technologie nanovláknenných nosičů byla vyvinuta na Technické univerzitě v Liberci ve spolupráci několika fakult. Základem jsou nanovláknenné vrstvy získané metodou elektrospinning ve speciálním zařízení Nanospider™. Tyto vrstvy jsou aplikovány na

nosnou nit (vyrobenou též z polymeru), ze které se dále vytvářejí samotné nosiče. Nosič tedy není pevným kusem polymeru o daném taru, ale jedná se o flexibilní a stabilní vláknennou formu polymeru. Toto s sebou přináší nové možnosti pro tvorbu biofilmu, neboť bakteriální kultura narůstá nejen na povrchu, ale také v pórech přímo uvnitř nosiče. Zde je více chráněná před toxickými vlivy prostředí, ale přístup živin a kyslíku zůstává zachován i pro mocnější biofilmy, neboť nitě jsou substrátem nasáklé a vytvářejí jakýsi vnitřní zásobovací kanál. [4][5]



**Obr.4: Vývoj kolonizace nanovláknenného nosiče, elektronový mikroskop [5]**

Základní výhodou nanovláknenných nosičů je jejich rozměrová srovnatelnost s mikroorganismy a velká pórovitost při malém rozměru pórů. Poskytují lepší morfologii povrchu a vysokou adhezivitu, která zjednodušuje bakteriím imobilizaci a to zejména v úvodních fázích kolonizace. Nesmíme též opomenout jejich vysoký měrný povrch, který, jak bylo zjištěno, hraje klíčovou roli v celé technologii MBBR. Vše je dáno technickým způsobem výroby generujícím chaoticky propletená nanovláknna. Výsledný povrch je velice morfologicky pozoruhodný, neboť zde náhodně vznikají prostorové obloučky jednotlivých vláken, které ještě navyšují výsledný povrch. Mimo to tato technologie nabízí i poměrně velkou flexibilitu – možnost kombinovat různé polymery, a tím nastavovat parametry nosiče přímo podle požadavků dané odpadní vody či specifické aplikace (např. denzita nosiče se může pohybovat v rozmezí 900-1200 kg/m<sup>3</sup>). [4][5][8]

### **3.5 Vývoj nanovláknenných nosičů na TUL**

Vývoj nosičů s nanovláknennou vrstvou probíhá již několik let. Jako první nosná nit bylo testováno bavlněné vlákno, ale kvůli své vysoké nasákavosti a tvarové nestálosti se brzy ukázalo jak nevhodné. Náhradou za něj se stal polypropylen, který se díky své nízké denzitě a vysoké stálosti ukázal jako vhodnější. Docházelo však k dalším komplikacím v podobě uvolňování nanovrstev z nosné nitě – k jejich dezintegraci.

Tento problém vyřešila přídatná ochranná nit, která nanovlákna na povrchu zafixovala. [4][5]

Dalším úkolem bylo selektovat vhodný polymer pro samotná nanovlákna a to takový, který může být elektrostaticky zvlákňován a zároveň je vhodný pro biologické čištění odpadních vod (není toxický pro bakterie, je chemicky a mechanicky stálý). Testována byla například vlákna z polyeter sulfonu, polyvinyl butyralu či polyuretanu. Poslední zmíněná se nakonec ukázala jako nejvhodnější, neboť kromě základních požadavků splňovala i další náležitosti užitečné pro tvorbu nosičů a jejich následnou manipulaci (pružnost, neopotřebovatelnost a dotyková odolnost). [5]

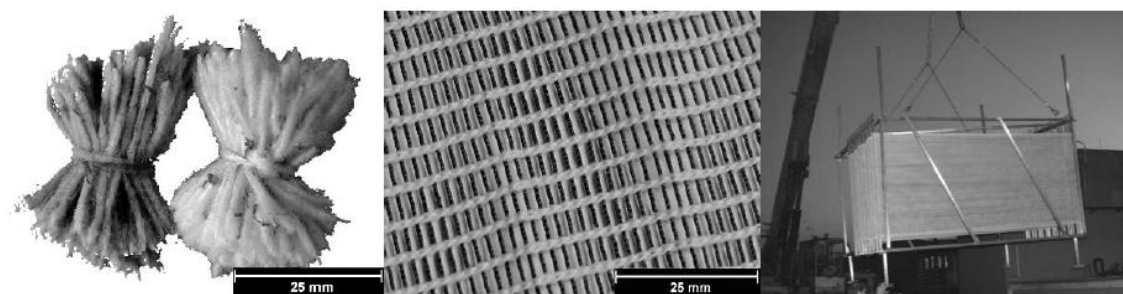
Výslednou formou je tedy příze tvořená nosnou nití s nánosem nanotextílie. Základní vlákno je polypropylen Prolenvir CE (660 dtex, vzduchem tvarovaný), povlak se skládá z polyuretanových nanovláken Larithane 1083 (50 dtex, metoda elektrospinning, průměr nanovláken je cca 260 nm), vše je dvojitě obtočeno ochranným vláknem z polypropylenu (167 dtex). Specifický povrch výsledného útvaru s polyuretanovými nanovláknem s hodnotou 50 dtex je minimálně  $800 \text{ m}^2/\text{m}^3$ , pro 100 dtex až  $10000 \text{ m}^2/\text{m}^3$ . [5]



**Obr.5: Historie vývoje nosičů – bavlněná nit, polymerní nit, polymerní nit s ochrannou [5]**

Příze je následně zpracovávána textilními technologiemi do prostorových či plošných útvarů. První zmíněný má podobu smotku typu bambule (tzv. „nanobambule“) a je rozměrově srovnatelný s komerčně používanými nosiči – v průměru měří cca 3 cm. Struktura je zcela libovolná, ideálně sférického tvaru, což minimalizuje náklady na míchání, které je třeba zajistit středo-bublinou aerací. Tento nosič byl podroben dlouhodobým laboratorním testům a kvalitativně odpovídá komerčním nosičům používaných pro MBBR reaktory (v některých ohledech je dokonce převyšuje). Druhý, plošný, má podobu pleteniny vyznačující se velkými oky mezi jednotlivými přízemi. Útvar byl vyroben technologií proplétání s vloženým útkem (polypropylen, 200 dtex). Pletenina je fixována do nosných rámců, které jsou následně instalovány do aktivačních

nádrží jako vyjímatelné moduly. Odpadní voda pak protéká skrze tyto pevně fixované systémy a je provzdušňována pouze jemno-bublinnými aerátory. Právě díky menším nárokům na aeraci (zajišťuje pouze přístup kyslíku, nikoli míchání objemu reaktoru) je tato technologie používána jako náhrada (zefektivnění) stávajících systémů čistíren, kde je ve většině případů instalován jemno-bublinný aerační systém. [4][5]



**Obr.6: Textilní nosiče - nanobambule, pletenina, technologie vyjímatelných ráků [5]**

## **Praktická část - materiály a metody**

### **4 Užití metody měření**

#### **4.1 Stanovení CHSK**

Pro stanovení chemické spotřeby kyslíku (CHSK) byly použity jednoúčelové kyvetové testy COD výrobce Hach Lange. Zde oxidovatelná složka vzorku reaguje v přítomnosti síranu stříbrného, který působí jako katalyzátor, s kyselinou sírovou a dichromanem draselným. To vše probíhá za dvouhodinového varu při 148 °C. Za těchto podmínek dochází k oxidaci i velmi stabilních látek. Jejich redukce probíhá ve žlutém zbarvení chromových iontů  $\text{Cr}^{6+}$  a je vyhodnocena spektrofotometricky. V našem měření byl použit spektrofotometr Hach Lange DR 2800. Dichromanová metoda je použitelná pro sledování všech druhů vod, tedy i odpadních. [19]

#### **4.2 Stanovení fenolů**

Koncentrace fenolů byla taktéž stanovována kyvetovými testy výrobce Hach Lange. Zde fenol reaguje za pokojové teploty se 4-nitroanilinem za vzniku žlutého až oranžového komplexu. Vše je opět vyhodnoceno spektrofotometricky. [20]

#### **4.3 Absorbance**

Rychlost růstu mikroorganismů ve vodném roztoku je možno monitorovat optickou denzitou – absorbancí. Zde je stanoven zákal (reprezentující počet buněk) jako množství světla absorbovaného při průchodu kyvetou oproti nulovacímu roztoku, kterým byla v našem případě destilovaná voda. Měření bylo prováděno spektrofotometricky při vlnové délce 420 nm. Pro vyhodnocení byl opět použit spektrofotometr Hach Lange DR 2800.

#### **4.4 pH**

Pro měření pH v bioreaktorech byla použita pH sonda SenTix<sup>®</sup> 41 od výrobce WTW. Tento elektrochemický senzor se skládá z měřicí a referenční elektrody. Měřicí elektroda je vyrobena ze speciálního nízkoohmického membránového skla, které je velmi citlivé vůči vodíkovým iontům. Vnitřní náplň sondy tvoří gelový roztok pufru s pH 7. Ponoření do měřeného roztoku vyvolá změny potenciálu na měřicí elektrodě vůči elektrodě referenční. Tuto změnu zaznamená měřicí přístroj, v našem případě

WTW Multi 350i, a přepočte ji na hodnotu pH. V této sondě je též zabudované teplotní čidlo, jímž byla stanovována teplota vody v reaktorech. [18]

#### **4.5 Vodivost, konduktivita**

K měření konduktivity neboli měrné vodivosti byla použita konduktometrická cela TetraCon<sup>®</sup> 325 od výrobce WTW. Tato se skládá ze čtyř grafitových elektrod zalitých v robustním epoxy odlitku. Měření konduktivity se provádí měřením elektrochemického odporu roztoku. Střídavé napětí přiložené na elektrody způsobí uspořádaný pohyb iontů přítomných v měřeném roztoku. Čím více iontů je obsaženo v roztoku, tím větší proud protéká mezi elektrodami. Měřicí přístroj na základě Ohmova zákona vypočte ze změřeného proudu vodivost měřeného roztoku, a pak ji při zohlednění parametrů cely převede na hodnotu měrné vodivosti – konduktivity. Používanými jednotkami jsou zde mS/cm. [18]

#### **4.6 Kyslík a respirace**

Respirace monitoruje aktivitu směsi živých kultur mikroorganismů a odpadní vody (substrátu), a tím stanoví nároky biomasy na množství kyslíku rozpuštěného ve vodě. Respirace je vyjádřením biologické potřeby kyslíku mikroorganismů pro jejich metabolismus. Kyslík výrazně napomáhá degradaci kontaminantů. Výstupem měření respirace je určení aktivity mikroorganismů. [10]

Měření respirace se provádí v uzavřené nádobě, tzv. respirometrické cele, v níž nedochází k přístupu vzduchu k hladině biologické směsi. Měření se skládá ze dvou period – provzdušňování a měření spotřeby kyslíku. Provzdušňování je prováděno ponorným aerátorem, jež nasytí směs rozpuštěným kyslíkem na koncentraci okolo 8 mg/l. Poté se do cely přidá polutant ve formě fenolu o koncentraci 2 mg/l. Cela se uzavře a utěsní tak, aby bylo zamezeno přístupu vzduchu z okolí. V okamžiku uzavření se začne spotřebovávat kyslík a jeho klesající koncentrace v roztoku je zaznamenávána měřicím přístrojem z kyslíkové sondy vnořené do směsi a utěsněné v respirometrické cele. Úbytek rozpuštěného kyslíku je zaznamenáván v závislosti na čase až do doby, kdy jeho koncentrace poklesne pod hodnotu zhruba 2 mg/l. Poté následuje nová etapa aerace a celý cyklus je několikrát opakován.

Pro měření rozpuštěného kyslíku byl použit membránou krytý galvanický kyslíkový senzor Cellox<sup>®</sup> 325 od firmy WTW, který stanovuje jeho koncentraci elektrochemicky. Tato sonda obsahuje pracovní elektrodu (katodu) a anodu. Obě

elektrody se nacházejí v prostředí elektrolytu, který je pomocí membrány oddělen od vzorku. Pracovní elektroda redukuje molekuly kyslíku na hydroxilové anionty, což vede ke vzniku elektrického proudu od anody ke katodě. Čím více kyslíku roztok obsahuje, tím větší je měřený proudový signál. Měřič (v našem případě WTW Multi 350i) přepočte tento signál s pomocí funkce rozpustnosti na koncentraci kyslíku v měrném roztoku. [18]

## Praktická část – reaktory a nosiče

### 5 Mikroorganismy

Mikroorganismy pro laboratorní testy simulující čištění odpadních vod by měly splňovat několik základních podmínek. Musí být schopné narůstat ve formě biofilmu a zároveň degradovat vybraný polutant, nesmí však být patogenní.

#### 5.1 *Rhodococcus erythropolis*

V našem případě byly použity mikroorganismy selektované na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze. Jedná se o bakteriální kmen rodu *Rhodococcus erythropolis* adaptovaný pro degradaci fenolů. Tento kmen vyniká svou odolností, schopností odolávat velkým změnám teploty (10 – 40°C) a přizpůsobí se i velké salinitě. Buňky tohoto kmene obsahují velké množství enzymů a mohou tedy provádět enormní množství degradací a biokonverzí. [2]

### 6 Reaktory

Pro laboratorní testy bylo použito několika reaktorů. Pro každý typ nosiče byl použit samostatný reaktor. Všechny reaktory byly zkonstruovány a provozovány současně a za stejných podmínek (mikroorganismy, objem vody, teplota, pH, konduktivita, odpadní voda).



Obr.7: Fotografie laboratorních reaktorů s fluidními nosiči



## 6.1 Reaktory s fluidními nosiči

Pro fluidní sadu nosičů byla použita válcová skleněná nádoba o celkovém objemu pět litrů (viz obr.7). Celkem bylo zaplněno 3000 ml, z čehož 30% (tedy 1000 ml) byl objem nosičů. Na dno nádoby byl umístěn plochý kontinuální aerační systém zajišťující středně-bublinou aeraci k udržení nosičů ve vznosu a transportu substrátu k biofilmu. Všechny čtyři reaktory byly kontinuálně zásobovány z jedné nádrže modelovou vodou rychlostí 280 ml/den. Ta obsahovala organické znečištění ve formě čistého fenolu o koncentraci 120-6000 mg/l a makronutrienty (amoniak, fosforečnany) ve formě solí o celkové konduktivitě v rozsahu 11-20 mS/cm. Hodnota pH vstupní vody byla regulována v rozsahu 7-7,2.

## 6.2 Reaktory s fixními nosiči

Pro fixní sadu nosičů byly použity skleněné válcové nádoby o celkovém obsahu jeden litr. V nich byla napevno umístěna tkanina s nanovláknennou aplikací ponořená do vodního roztoku. V každém ze tří fixních reaktorů měla tkanina jiný měrný povrch. Přisun kyslíku byl opět zajišťován provzdušňovacím zařízením. Do těchto reaktorů bylo znečištění přidáváno nárazově ve formě čistého fenolu (0,5-2 ml v jedné dávce).



Obr.8: Fotografie reaktorů s fixními nosiči biomasy

## 7 Nosiče biomasy

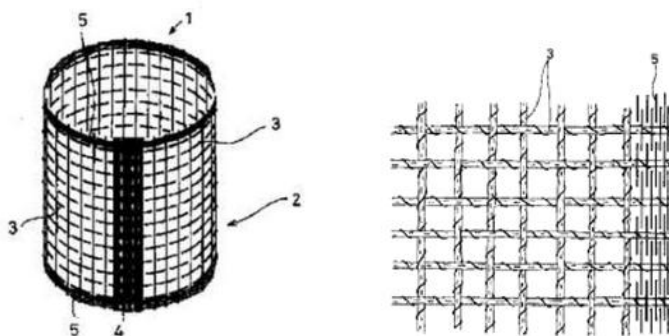
### 7.1 Fluidní nosiče biomasy

Byly použity celkem čtyři druhy nosičů. Prvním byly komerčně používané nosiče AnoxKaldnes, konkrétně typ K3. Zbylé tři byly ručně vytvořeny z nanovláknenných textilií vyrobených na textilní fakultě TUL, jelikož zatím není k dispozici žádná automatizovaná linka. Nosiče byly vytvořeny na základě vlastních návrhů, které částečně vzešly z rešerše na celosvětový stav techniky a patentovou čistotu textilních nosičů biomasy sepsané na TUL.

### 7.2 Vývoj vlastních nosičů

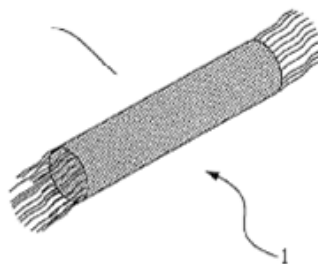
#### 7.2.1 Soudkovité nosiče

Prvním použitým vzorem, který se stal inspirací pro tvorbu vlastních nosičů, byla japonská přihláška číslo JP11000682. Ta popisuje pohyblivý nosič biomasy, který má válcový tvar a je tvořen sítí pletených vláken. Vláknem <3> použitá v pletenině mají pevnější charakter a souží také pro udržení tvaru. Prahová pásma <5> mají vyšší koncentraci vláken, která jsou navíc tepelně opracována. Z popisu není zřejmé, jaká vlákna jsou na co použita, je však možné použít polypropylen, polyester a vlákna <3> mohou být v alternativě bavlněná vlákna.



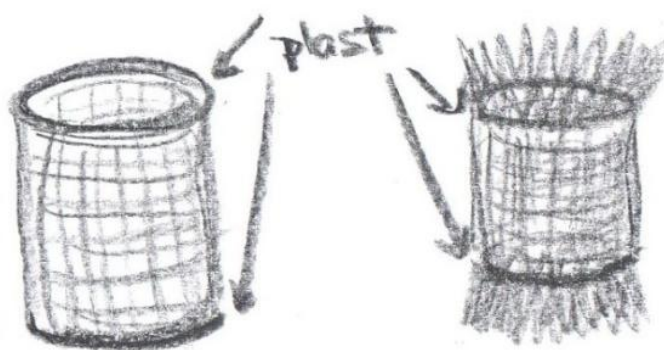
Obr.9: Originální obrázky přiložené k japonskému patentu

Druhým vzorem pro nové nosiče byla americká patentová přihláška US 2011049033. Ta popisuje nosič mikroorganismů ve tvaru síťované trubice s roztrápenými konci. Nosič je tvořen z netkané textilie o délce cca 5 cm. Netkaná textilie dle popisu ideálně obsahuje vlákna ze skupiny: polypropylen, polyethylen, polyvinyl alkohol, akryl. Vláknem mají tloušťku kolem 0,1 mm. Velikost pórů v síťované trubici při tloušťce 3 mm je 0,26 x 0,25 mm.



**Obr.10: Původní ilustrace nosiče z americké patentové přihlášky**

Na základě těchto dvou patentů byl vytvořen nosič ve tvaru soudku – tzv. „nanosoudky“. Původním záměrem bylo vytvoření dutého podlouhlého nosiče který by měl pevné plastové konce, jež by zajišťovaly požadovaný tvar. Protože byly k dispozici omezené zdroje i techniky, konce pleteniny se nedaly přímo pokrýt plastem či jinak opracovat. Vzešel tedy nápad zafixovat tvar pomocí plastových stahovadel, která používají například instalatéři a která se dají běžně koupit v domácích potřebách.

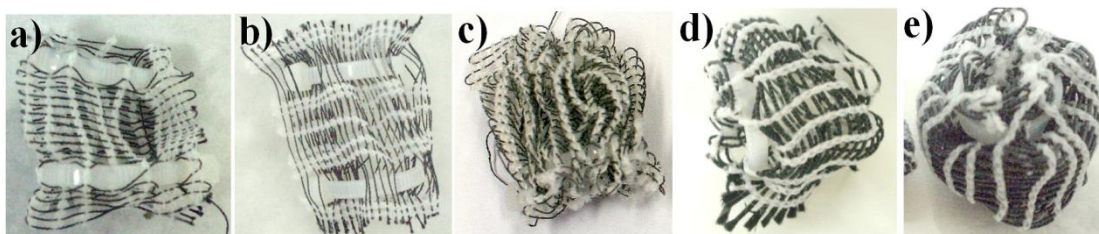


**Obr.11: Vlastní návrh soudkovitého nosiče**

Pro vytvoření „nanosoudku“ byl nakonec použit pás pleteniny, který byl ručně ohnut do válcovitého tvaru a zafixován pomocí plastových stahovadel. Fixace byla prováděna pravidelným propletením mezi osnovami nití. Vyzkoušeno bylo propletení v obou možných směrech (rovnoběžně a kolmo k útku). Vyrobeno bylo několik variací tohoto typu (viz tab.2 a obr.12) a to ze dvou různých pletenin (tlustší a tenčí nosná nit) s různou délkou výchozího proužku, od každého typu po pěti kusech.

**Tab.2: Přehled vyrobených „prototypů“ soudkových nosičů a jejich vlastností**

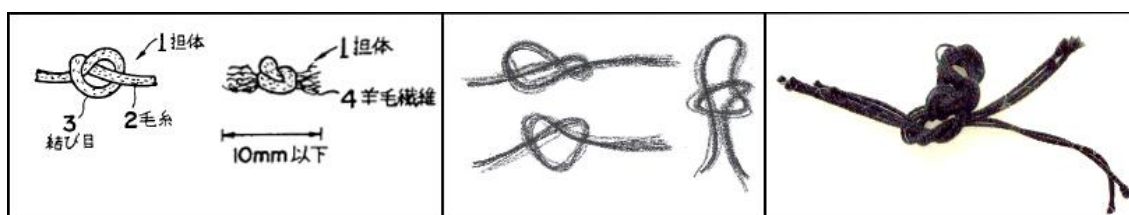
typ	pletenina	rozměry pásu	popis	vlastnosti
a)	tenká nit	3,5 x 9,5 cm	propleteno stahovadly kolmo k útku	neplave, klesá ke dnu nedrží tvar, částečně se rozplétá
b)	tenká nit	3,5 x 9,5 cm	propleteno stahovadly rovnoběžně s útkem	plave nečinně na hladině rozplétá se, nedrží tvar
c)	tenká nit	3,5 x 19 cm	propleteno stahovadly kolmo k útku	vznáší se, drží tvar občasné rozplétání krajní nitě
d)	tlustá nit	3,5 x 9,5 cm	propleteno stahovadly kolmo k útku	1/2 nosičů se vznáší, 1/2 klesá drží tvar, rozplétá se
e)	tlustá nit	3,5 x 19 cm	přepůleno podélným ohnutím a propleteno stahovadly kolmo k útku	vznáší se, plave na hladině skvěle drží tvar, nerozplétá se



**Obr.12: Tvorba vlastního nosiče – různé zkoušené varianty „nanosoudků“**

### 7.2.2 Nosiče ve formě uzlíků

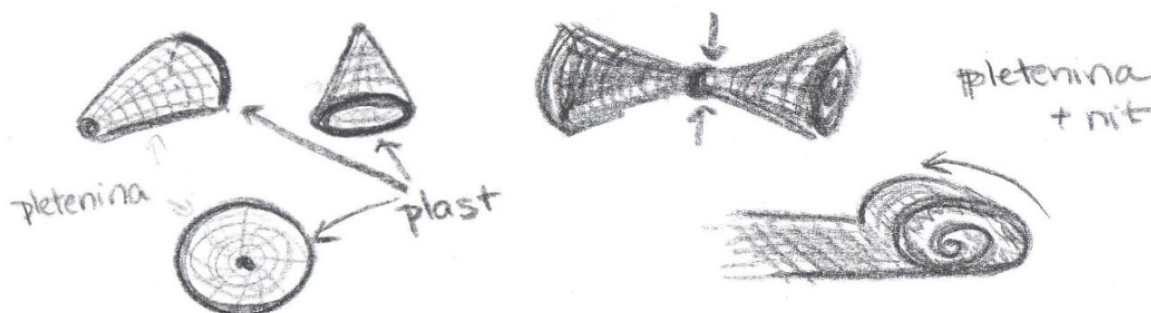
Jako další možný nosič se nabízel útvar v podobě uzlíku. I tato varianta měla svůj původ v patentové rešerši, konkrétně v japonské patentové přihlášce číslo JP 1004293. Ta popisuje bakteriální nosič ke zvýšení síly bakterií v anaerobním prostředí, jehož těla tvoří běžná vlněná vlákna přetvářená do uzlů a kouliček. V našem případě byla uvažována nit s nanovláknennou aplikací zauzlovaná do různých prostorových útvarů dosahující délky zhruba 3 cm a co největší šířky. Jelikož smočená nit má poměrně velkou hustotu, byla zde snaha zaujmout uzlíkem maximální plochu při malé tloušťce, aby se mohl nosič vznášet. I přes to se však uzlíky ukázaly jako nevhodné právě díky velké tendenci se potápět.



**Obr.13: Nosiče ve tvaru uzlů – původní japonský patent, vlastní návrhy, vytvořený nosič**

### 7.2.3 Kónické nosiče

Posledním uvažovaným typem nosičů byly kónické útvary. Nejprve byla navržena pyramida z pleteniny, která byla v podstatě obměnou „nanosoudků“. Plastovým zafixováním spodního kruhu by však vzniklo nerovnovážné rozložení hmotnosti a pyramidy by se v reaktoru špatně vznášely. Vznikl tedy nápad spojit dvě pyramidy k sobě a vytvořit tak útvar připomínající mašli. Zde nakonec odpadla nutnost fixace pomocí platových stahovadel, neboť mašlovitého tvaru bylo dosaženo srolováním pásu pleteniny do válce a jeho následným stažením uprostřed.



Obr.14: Kónické typy nosičů – vlevo pyramidy, vpravo mašličky

### 7.3 Výběr fluidních nosičů pro laboratorní testy

Všechny navržené nosiče byly následně máčeny ve vodě po dobu jednoho měsíce, aby bylo možné selektovat ty, které se budou v nádrži volně vznášet a nepotopí se ani po úplném smočení. Díky tvarové stálosti, malé tendenci se rozplétat a hlavně schopnosti udržení ve vznosu byly nakonec vybrány tři druhy pleteninových nosičů (viz obr.15). Prvním typem jsou soudky z pleteniny s tenkou nosnou nití proplétané kolmo k útku vytvořené z pásu pleteniny o rozměrech 3,5 x 19 cm. Druhým jsou soudky vyrobené z pásu pleteniny s tlustou nosnou nití o stejném rozměru jako první typ, proplétané opět kolmo k útku, avšak před samotným propletením byl pás podélně přeložen. Posledním vybraným typem nosiče se staly mašličky vyrobené z pásu tenké pleteniny o rozměrech 5 x 19 cm. Tento pás byl podélně srolován a uprostřed převázán nití, aby bylo docíleno tvaru mašle.





**Obr.15: Vybrané pleteninové nosiče pro laboratorní testy – tlustý a tenký soudek, mašle**

#### **7.4 Fixní nosiče biomasy**

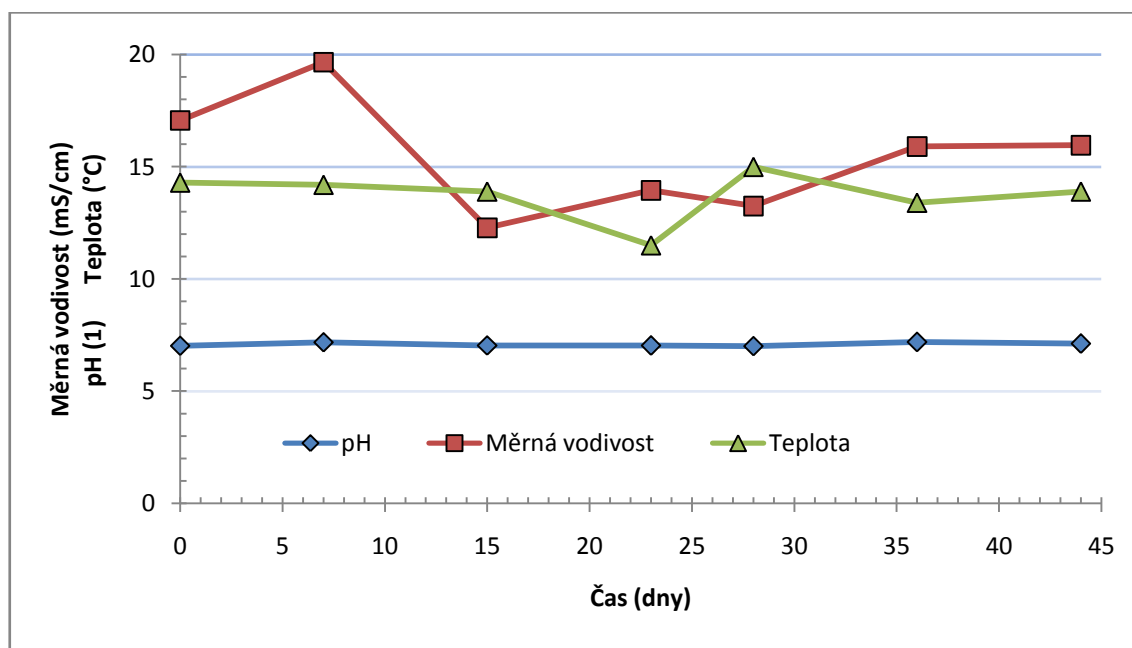
Byly použity celkem tři fixní nosiče. Jednalo se vždy o pás tlusté pleteniny, který byl svinut a zafixován do reaktoru pomocí kovových držáků. Nosiče se vzájemně lišily pouze množstvím pleteniny, které bylo na jejich výrobu použito. Každý nosič měl tedy jiný specifický povrch. Pro reaktor I byl použit pás pleteniny s měrným povrchem  $405 \text{ cm}^2$ , pro reaktor II pletenina o měrném povrchu  $607,5 \text{ cm}^2$  a pro reaktor III měla pletenina měrný povrch  $810 \text{ cm}^2$ . Fixní nosiče byly zkoušeny jako alternativa technologie vyjímatelných rámmů (viz kapitola 3.5, obr.6).

## Praktická část – výsledky a jejich diskuze

### 8 Výsledky pro fluidní nosiče biomasy

#### 8.1 Vstupní modelová voda

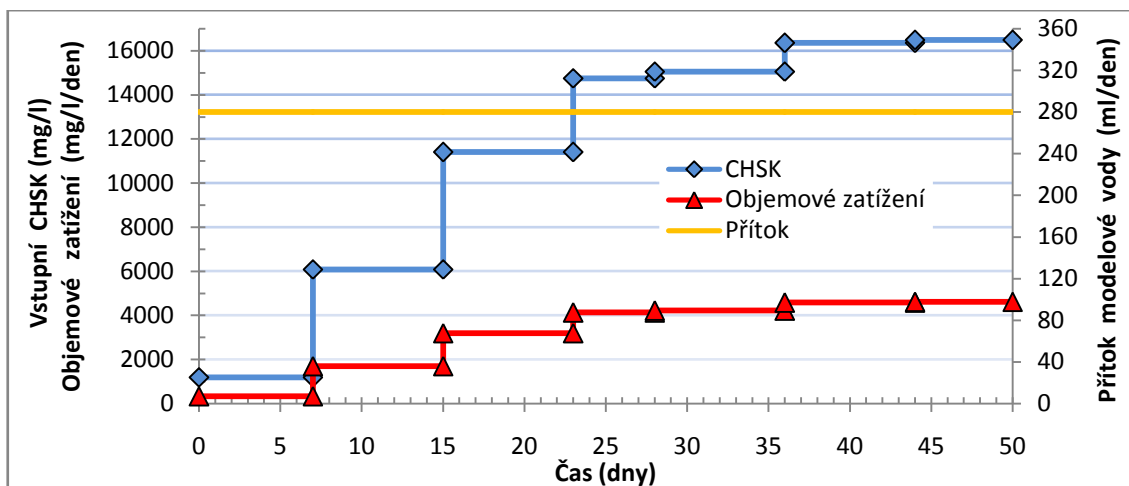
Všechny reaktory byly provozovány současně za stejných podmínek. Modelová voda byla přiváděna kontinuálně z jednoho zásobníku pomocí čerpadel konstantní rychlostí 280 ml/den. Obsahovala znečištění ve formě čistého fenolu a živiny pro podporu růstu a aktivity mikroorganismů ve formě solí (fosforečnany, amonné soli). Do vstupní vody byla též přidávána sůl ve formě NaCl pro zvýšení salinity roztoku, abychom se přiblížili podmínkám reálné odpadní vody z ČOV. Vstupní hodnoty reaktorů jsou shrnuty do grafu níže.



Obr.16: Vstupní hodnoty reaktorů

#### 8.2 Objemové zatížení

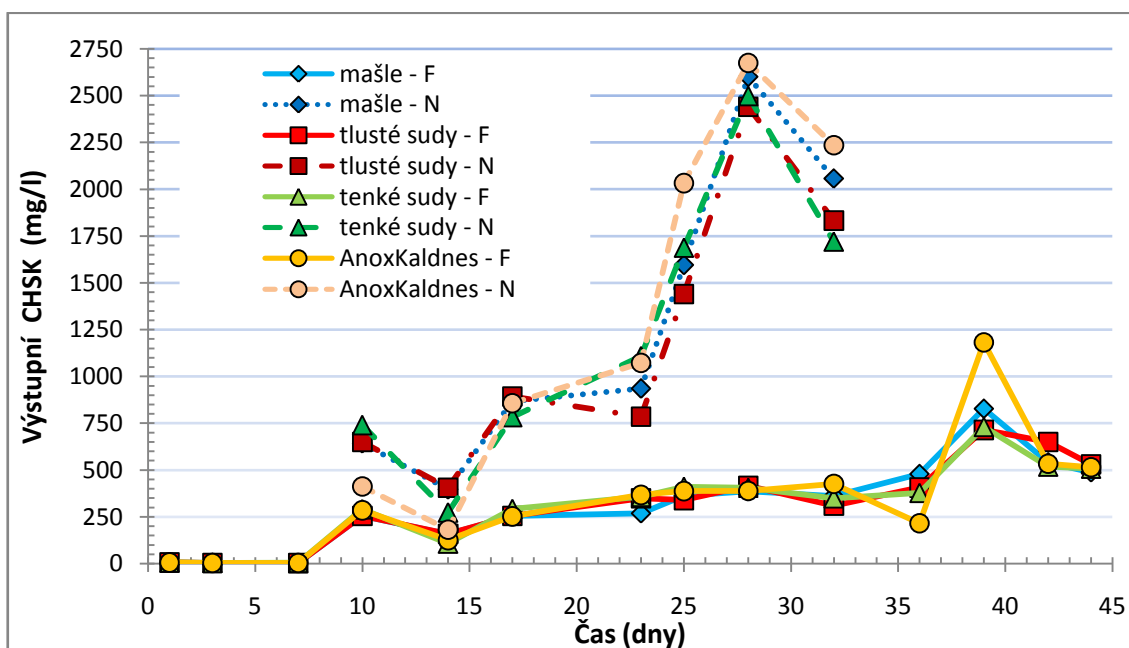
Součin průtoku reaktorem za den (ml/den) a hodnoty CHSK vody přitékající do reaktoru (mg/l) je označován jako objemové zatížení (mg/l/den). Objemové zatížení přitékající modelové vody by se mělo postupně zvyšovat s cílem určit maximální výkon a zatížení reaktorů. Parametry vstupní vody jsou zobrazeny v grafu na další stránce.



Obr.17: Graf vstupních parametrů modelové vody v závislosti na čase

### 8.3 CHSK

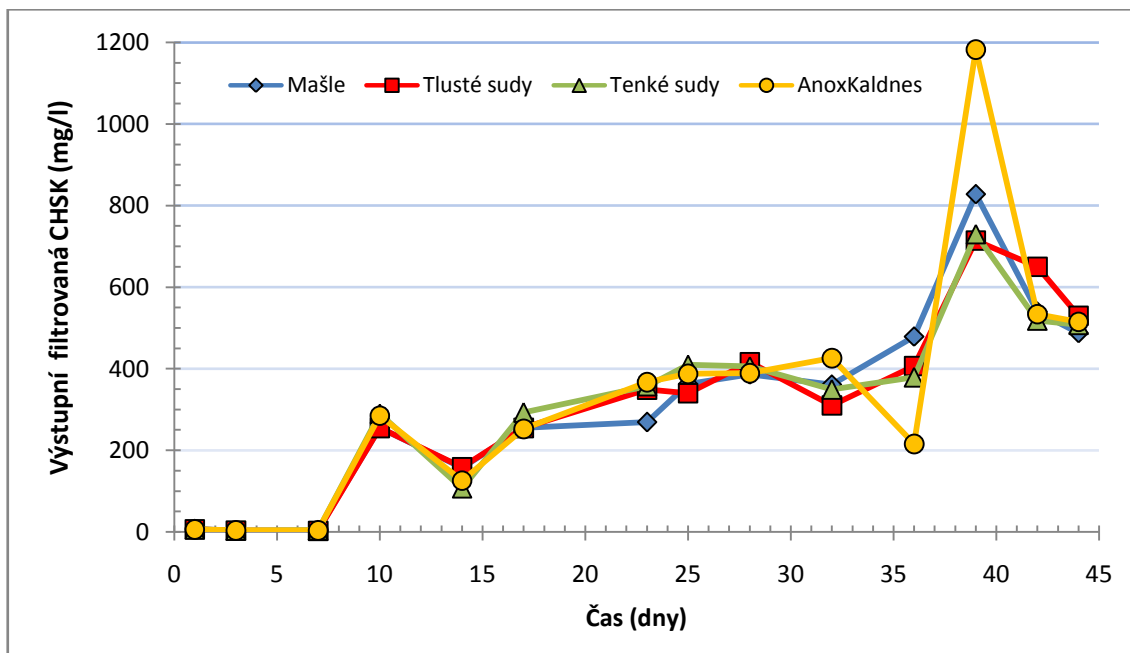
CHSK (chemická spotřeba kyslíku) udává spotřebu kyslíku potřebnou k oxidaci všech látek, tedy nejen těch, které mohou být odbourány biologickou cestou. Jde o označení stanovení míry znečištění vody organickými i oxidovatelnými anorganickými látkami. V našem případě se používá pro hodnocení schopnosti degenerace mikroorganismy. Z filtrované CHSK můžeme určit množství znečištění, které mikroorganismy nedokázaly degradovat. Nefiltrovaná CHSK je zatížena chybou, neboť jsou zde do reakce při vyhodnocení zapojeny nerozpuštěné látky i samotné mikroorganismy. V souhrnném grafu mapujícím výstupní CHSK reaktorů je filtrovaná CHSK značena písmenem F, nefiltrovaná pak písmenem N.



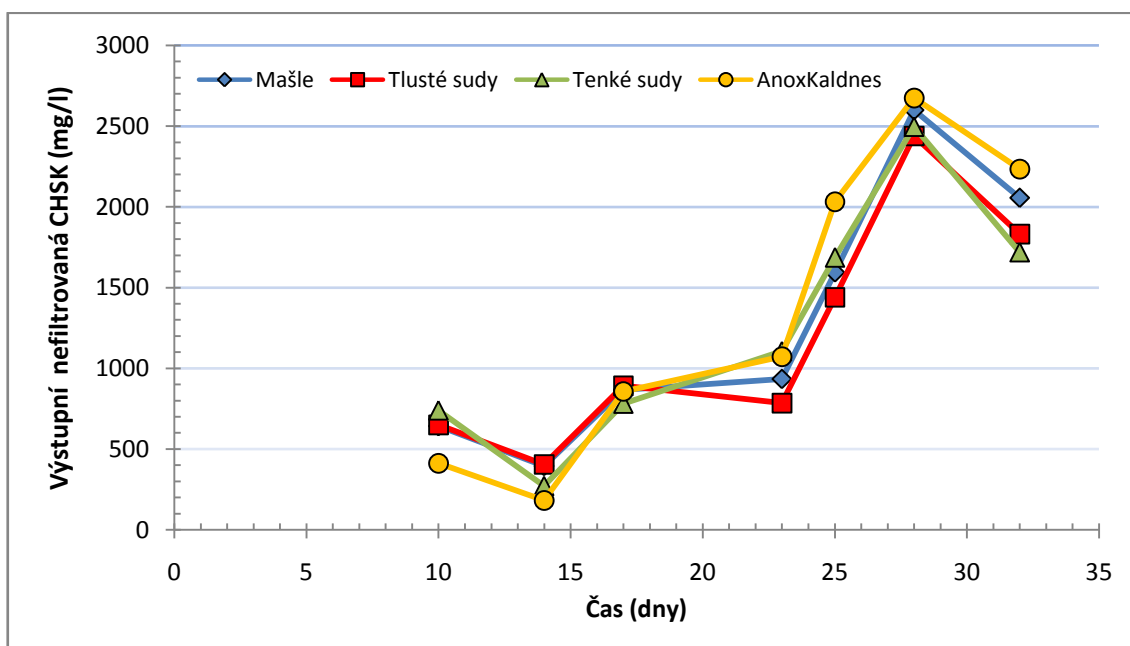
Obr.18: Souhrnný graf výstupní CHSK reaktorů v průběhu času



Je patrné, že všechny čtyři typy nosičů degradují znečištění s téměř stejnou účinností. Nejvýraznější rozdíl nastal u filtrované CHSK (obr.19) v okolí 35.-40. dne, kdy byla CHSK vstupní vody zvýšena na hodnotu vyšší než 16300 mg/l. Do reaktorů tak za jeden den přiteklo znečištění s CHSK větší než 45 000 000 mg/l/den. Toto vysoké zatížení se odrazilo na účinnosti degradace, nejvýrazněji pak u nosičů AnoxKaldnes. Nanovláknenné nosiče zde prokázaly větší stabilitu v účinnosti degradačního procesu.



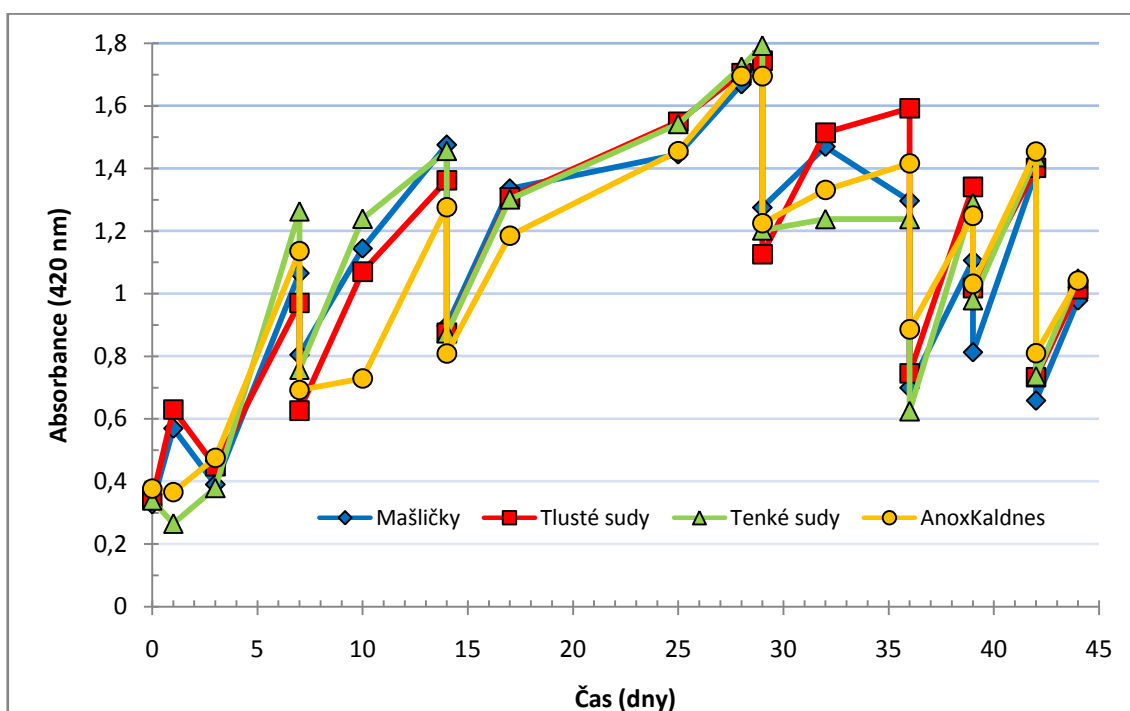
Obr.19: Výstupní filtrovaná CHSK



Obr.20: Výstupní nefiltrovaná CHSK

## 8.4 Optická denzita

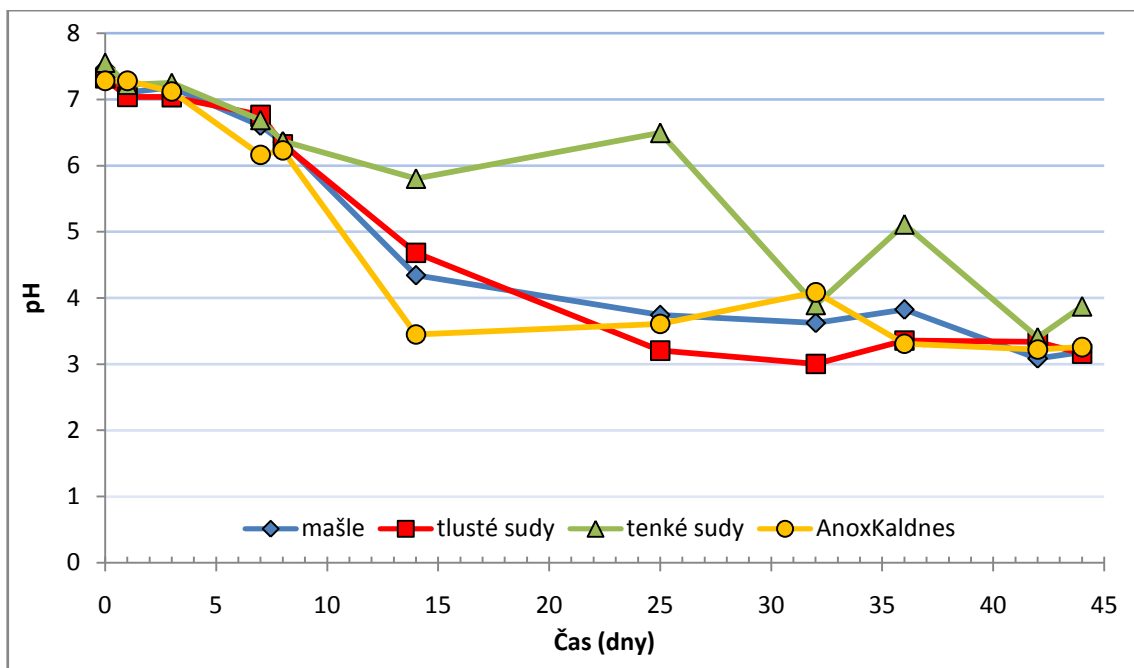
Z naměřených dat absorbance byl vynesena graf níže. Je zřetelné, že hodnoty všech reaktorů jsou si velmi podobné. Lze tedy říci, že nanovláknenné nosiče jsou pro mikroorganismy stejně výhodným prostředím na tvorbu biofilmu jako nosiče AnoxKaldnes. Ostré poklesy absorbance byly způsobeny vyředěním reaktorů čistou odstátou vodou z kohoutku z důvodu snížení množství volně rozptýlených mikroorganismů, které přesahovalo únosnou mez, neboť ztěžovalo měření ostatních veličin.



Obr.21: Vývoj absorbance reaktorů

## 8.5 pH

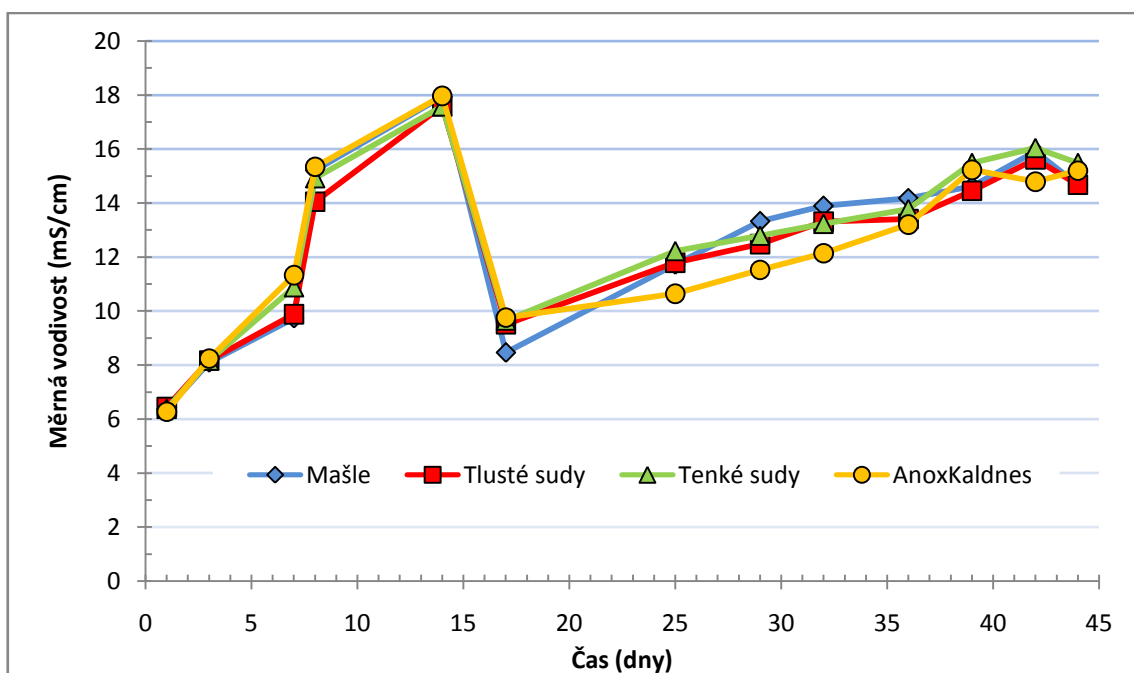
Hodnota pH je důležitým faktorem, neboť její skokové změny mohou narušovat optimální podmínky v reaktorech, a tím inhibovat mikrobiální aktivitu. Při samotné degradaci se hodnota pH mění - má klesající tendenci, jak je zachyceno v grafu níže. Pokles pH je pravděpodobně způsoben oxidací polutantů, neboť změna oxidačního stavu může mít za následek změny pH. Klesající tendence se prosazuje tím výrazněji, čím déle jsou reaktory v činnosti. To je pravděpodobně způsobeno zvyšující se CHSK vstupní vody. Čím více polutantů musí být oxidováno, tím větší a rychlejší jsou změny pH. V reaktorech bylo pH po každém měření dorovnáno zpět na hodnotu z rozmezí 7-7,2. Toto dorovnávání však v grafu pro lepší přehlednost zachyceno není.



Obr.22: Vývoj hodnoty pH v reaktorech

## 8.6 Vodivost

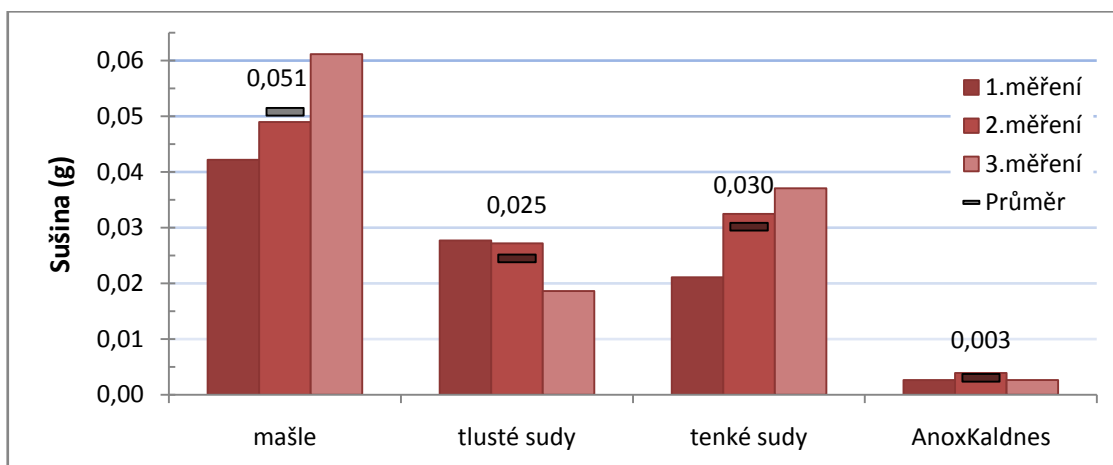
V grafu níže je zobrazen vývoj vodivosti v reaktorech. Ostrý pokles v okolí patnáctého dne byl způsoben vyředěním reaktorů odstátou vodou. Stoupající tendence vodivosti je způsobena neustálým přítokem modelové vody, jejíž konduktivita se pohybuje kolem 15 mS/cm.



Obr.23: Vývoj trendu vodivosti v reaktorech

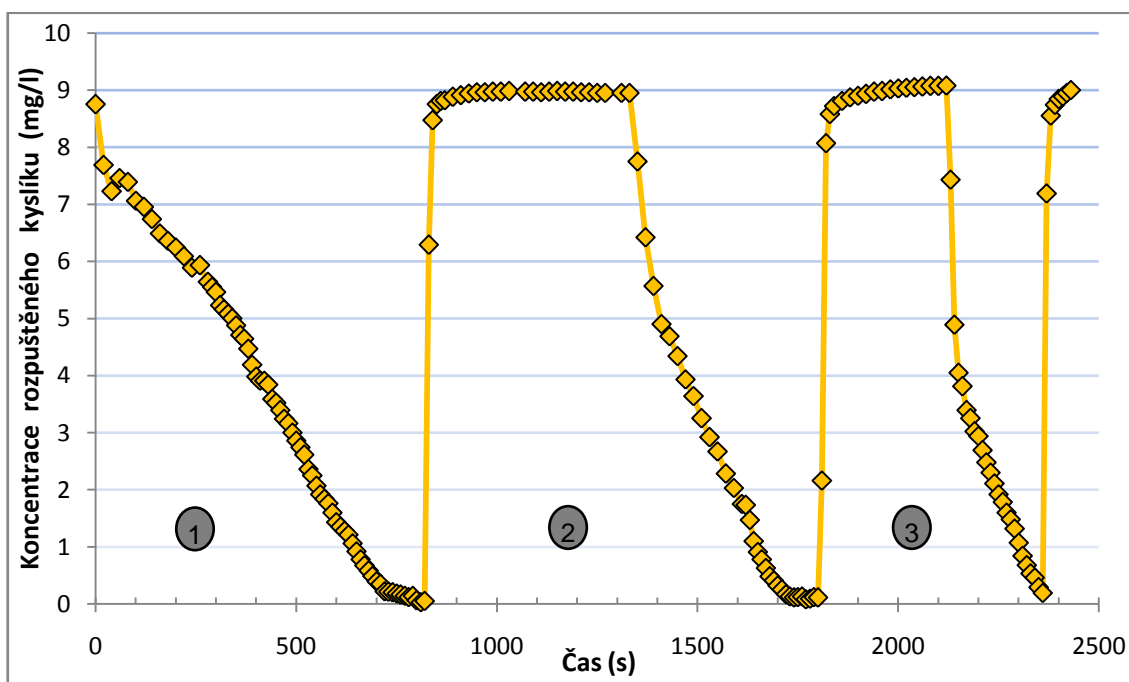
## 8.7 Sušina

Nosiče byly na začátku experimentu zcela původní, bez předchozí kolonizace. Stanovením sušiny lze určit množství mikroorganismů zachycených na nosiči a sledovat tak rychlost jeho kolonizace. V grafu níže je v sloupcovém grafu zachyceno vyhodnocení sušiny v 52. den kolonizace, černými čarami pak průměrná hodnota sušiny pro každý nosič. Je patrné, že nanovláknenné nosiče obsahovaly více sušiny než komerčně používané AnoxKaldnes. Lze tedy říci, že jsou kolonizovány rychleji (za shodný čas dosahují mocnějšího biofilmu než komerční nosiče).



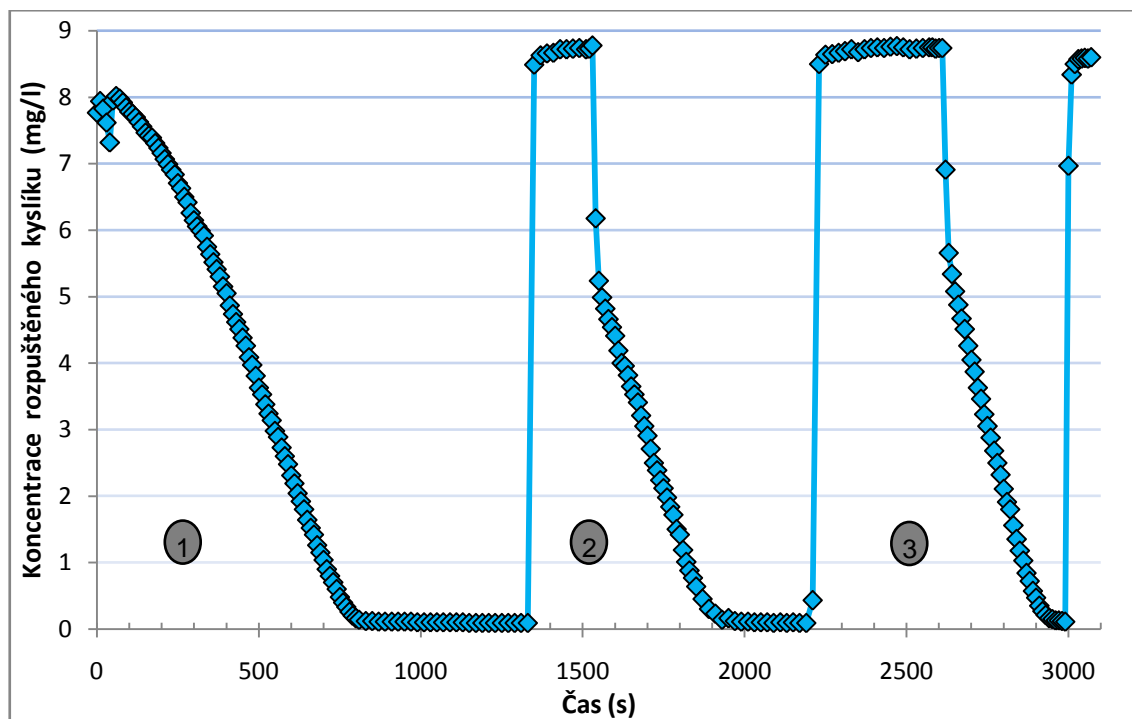
Obr.24: Množství sušiny na jednotlivých nosičích v 52. den kolonizace

## 8.8 Respiration



Obr.25: Průběh měření respirace nanovláknenných nosičů – tenkých soudků, 45.den

Grafy (obr.25 a 26) ukazují tři periody měření objemové respirace 45.den od počátku experimentu. Je patrné, že výsledky měření jsou pro nanovláknenné i komerční nosiče velmi podobné. Respirační data jsou uvedena v tabulkách 3 a 4.



**Obr.26: Průběh měření respirace komerčních nosičů AnoxKaldnes ve 45.den kolonizace**

Z tabulky níže lze vyčíst, že respirace od 15. dne kolonizace (3.4.2012) výrazně vzrostla a ve 45. den od počátku experimentu (3.5.2012) vykazuje až trojnásobné hodnoty. Aktivita mikrobiální populace tedy výrazně vzrostla, což poukazuje na dobrou adaptaci populace k daným fyzikálně-chemickým podmínkám.

**Tab.3: Měření objemové respirace jednotlivých reaktorů**

datum	reaktor	nosiče	1	2	3	průměr
3.4.2012	1	mašle	16,238	20,718	-	<b>18,478</b>
	4	AnoxKaldnes	14,671	19,816	-	<b>17,244</b>
3.5.2012	1	mašle	37,200	46,364	58,680	<b>47,415</b>
	2	tlusté sudy	42,695	61,680	64,800	<b>56,392</b>
	3	tenké sudy	40,210	60,043	62,047	<b>54,100</b>
	4	AnoxKaldnes	43,007	53,888	72,300	<b>56,398</b>
9.5.2012	1	pouze voda	50,293	-	-	<b>50,293</b>
	2	pouze voda	61,259	-	-	<b>61,259</b>
	3	pouze voda	39,600	57,394	-	<b>48,497</b>
	4	pouze voda	33,092	29,244	-	<b>31,168</b>

Hodnoty respirace pro jednotlivé nosiče se poměrně liší. Nejlepší výsledky vykazují reaktory 2 a 4, tedy nanovláknenné soudky vyrobené z tlusté pleteniny a komerčně používané AnoxKaldnes K3. U těchto dvou nosičů jsou průměrné hodnoty respirace téměř totožné, měříme-li objemovou respiraci vody společně s nosiči. Při měření samotné vody z reaktoru však „nanosoudky“ vykazují dvojnásobné hodnoty. To by znamenalo, že volně rozptýlená populace mikroorganismů by měla být u reaktoru 2 dvakrát větší. Výsledky měření sušiny jednotlivých nosičů však ukazují, že na „tlustých nanosoudcích“ je vázána desetkrát hmotnější populace. Dá se tedy říci, že nanovláknenné nosiče vytváří pro mikroorganismy příznivější prostředí a jejich populace více narůstá jak na nosičích tak volně v reaktoru.

Trend vysoké objemové respirace vody z reaktoru lze pozorovat u všech nanovláknenných nosičů (viz Tab.4). Nejvyšší hodnoty respirace samotných nosičů však vykazují komerční AnoxKaldnes. Tento výsledek je velmi zvláštní, neboť právě na nosičích AnoxKaldnes je dle měření sušiny vázána nejmenší mikrobiální populace.

**Tab.4: Porovnání nejvyšších výsledků objemové respirace reaktorů a sušiny na nosičích**

Reaktor/měření:	nosič + voda		voda	nosič	sušina (g)
1	18,478	58,680	50,293	<b>8,387</b>	0,051
2	18,478	64,800	61,259	<b>3,541</b>	0,025
3	18,478	62,047	57,394	<b>4,653</b>	0,030
4	17,244	72,300	33,092	<b>39,208</b>	0,003

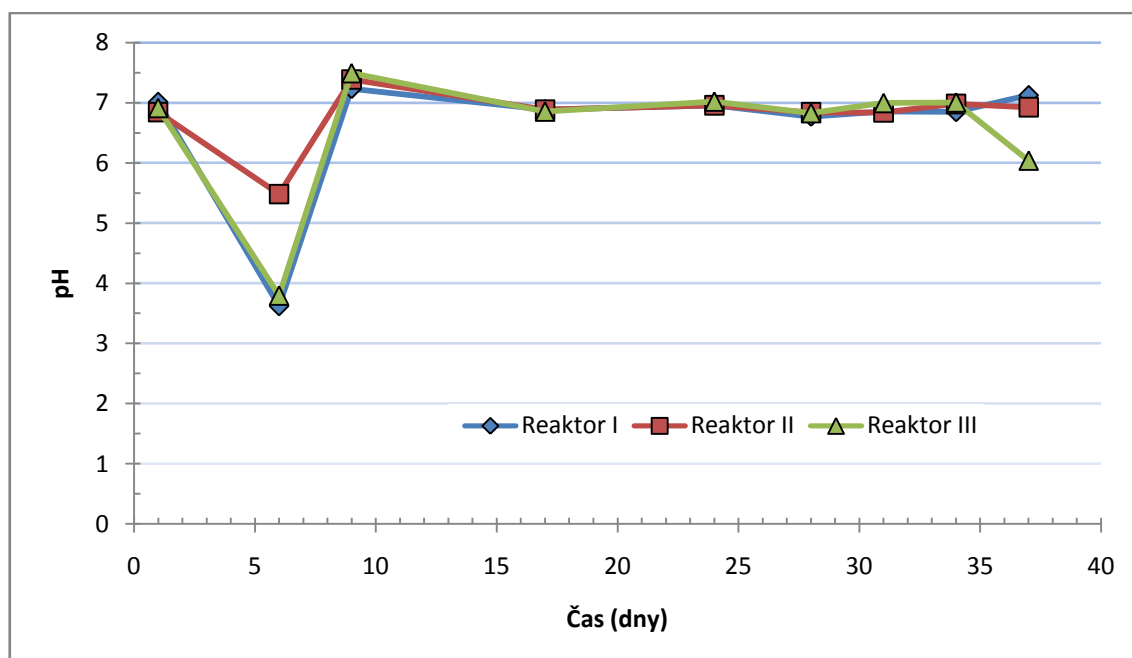
## 9 Výsledky pro fixní nosiče biomasy

### 9.1 Vstup do reaktorů

Do fixních reaktorů bylo znečištění ve formě čistého fenolu přidáváno nárazově zhruba jednou za sedm dní. Množství přidaného fenolu se pohybovalo v rozmezí 0,25-2 ml.

### 9.2 pH

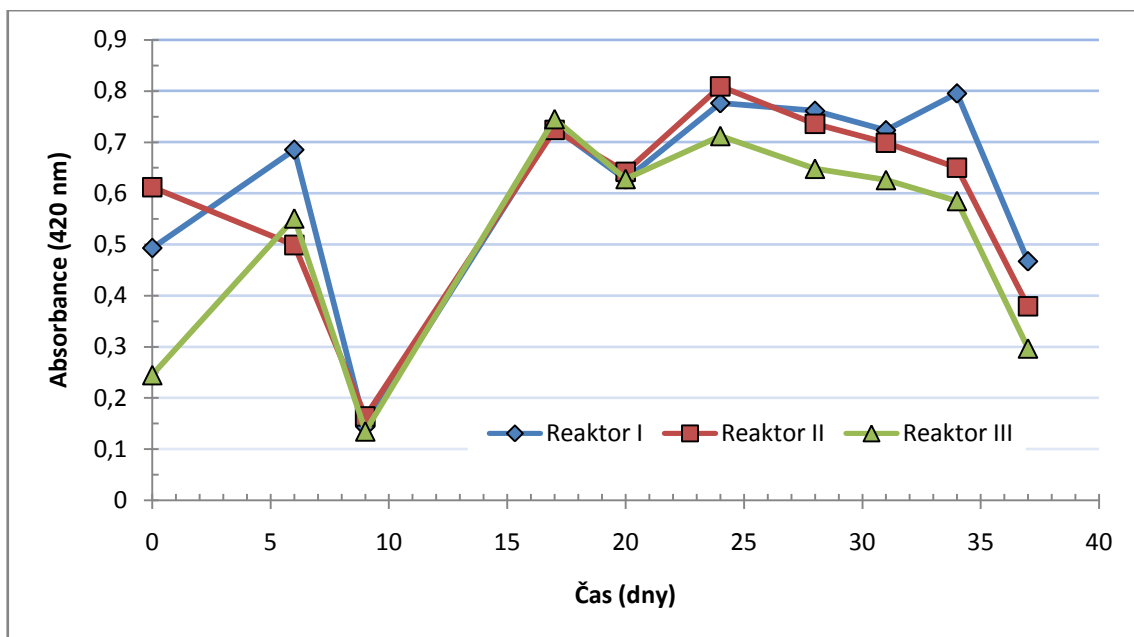
Na grafu níže je zobrazen vývoj pH v reaktorech. Jeho hodnota zůstává téměř konstantní ve všech reaktorech. Ostrý pokles na počátku experimentu byl pravděpodobně způsoben šokem z první dávky polutantu.



Obr.27: Vývoj pH ve fixních reaktorech

### 9.3 Optická denzita

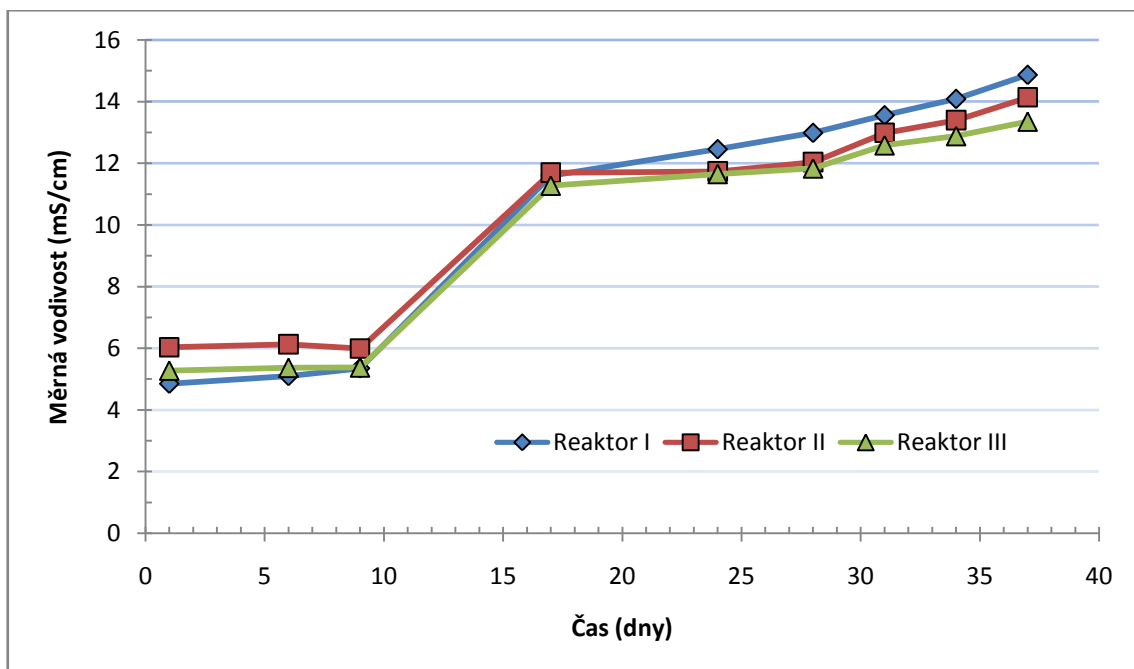
Z naměřených dat absorbance při 420 nm byl vynesena graf níže. Z klesající tendence absorbance by se dalo říci, že se mikroorganismy přesouvají z vody v reaktoru na nanovláknenné nosiče. Devátý den od počátku experimentu byla optická denzita tak nízká, že voda v reaktorech už volně rozptýlené mikroorganismy téměř neobsahovala - byla proto vyměněna za novou. Od této doby je opět patrná klesající absorbance, která dokládá ubývající množství rozptýlených mikroorganismů a tedy pravděpodobně další kolonizaci nosičů.



Obr.28: Vývoj absorbance reaktorů

#### 9.4 Měrná vodivost

Trend měrné vodivosti je mírně rostoucí, jak lze vidět na grafu níže. Ostré zvýšení bylo způsobeno výměnou vody v reaktorech (viz kapitola 9.3).

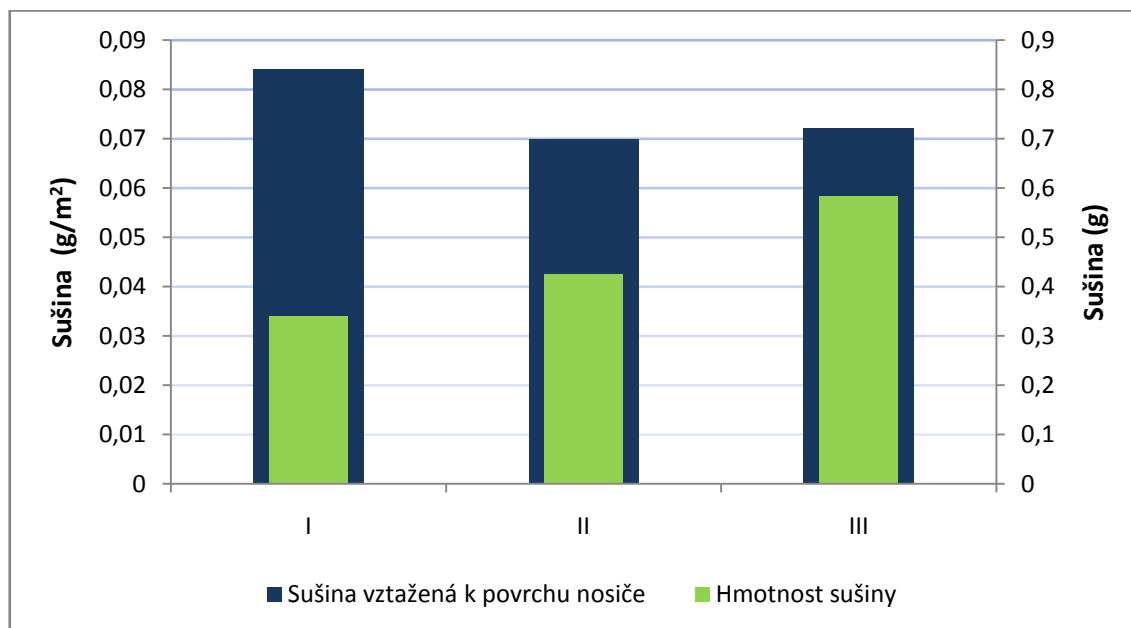


Obr.29: Vývoj trendu vodivosti



## 9.5 Sušina

Sloupkový graf níže zobrazuje vyhodnocení sušiny ve 45. den od počátku experimentu. Dle očekávání množství (hmotnost) sušiny sloupá se zvyšujícím se povrchem nosiče. Největší množství sušiny bylo naměřeno nosiči s největším specifickým povrchem v reaktoru III. Avšak vztáhneme-li hmotnost sušiny k měrnému povrchu nosiče, nejlepších výsledků dosahuje překvapivě reaktor I.



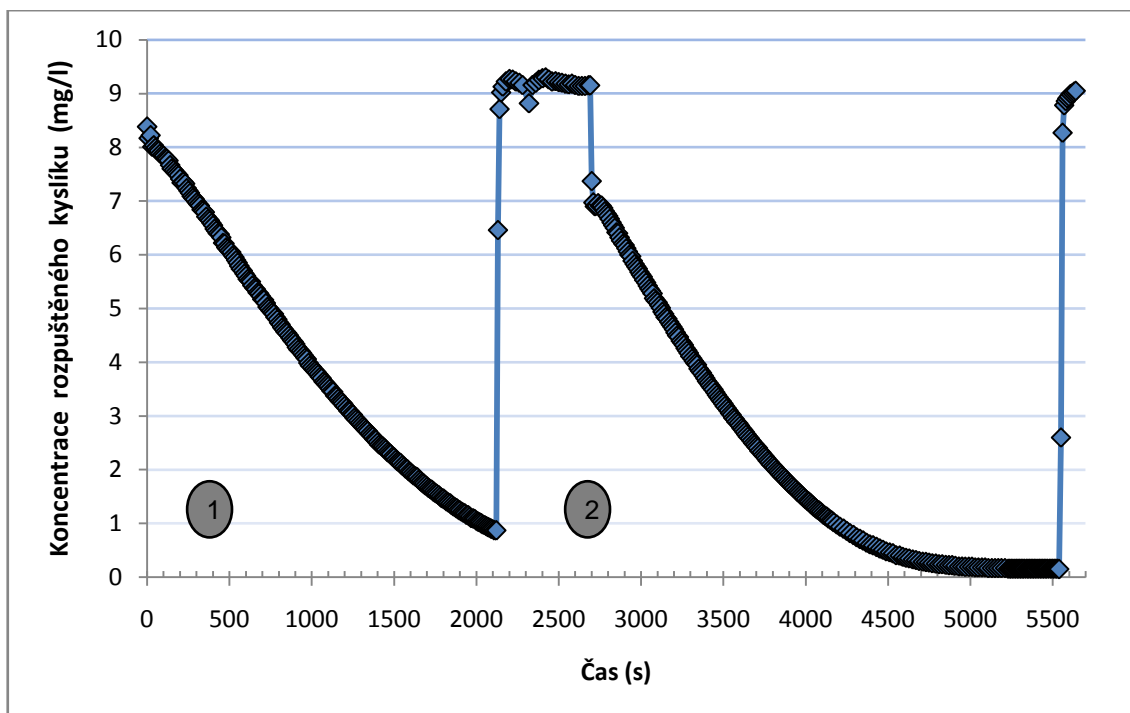
Obr.30: Hodnoty sušiny pro jednotlivé fixní reaktory, 45.den kolonizace

## 9.6 Respiration

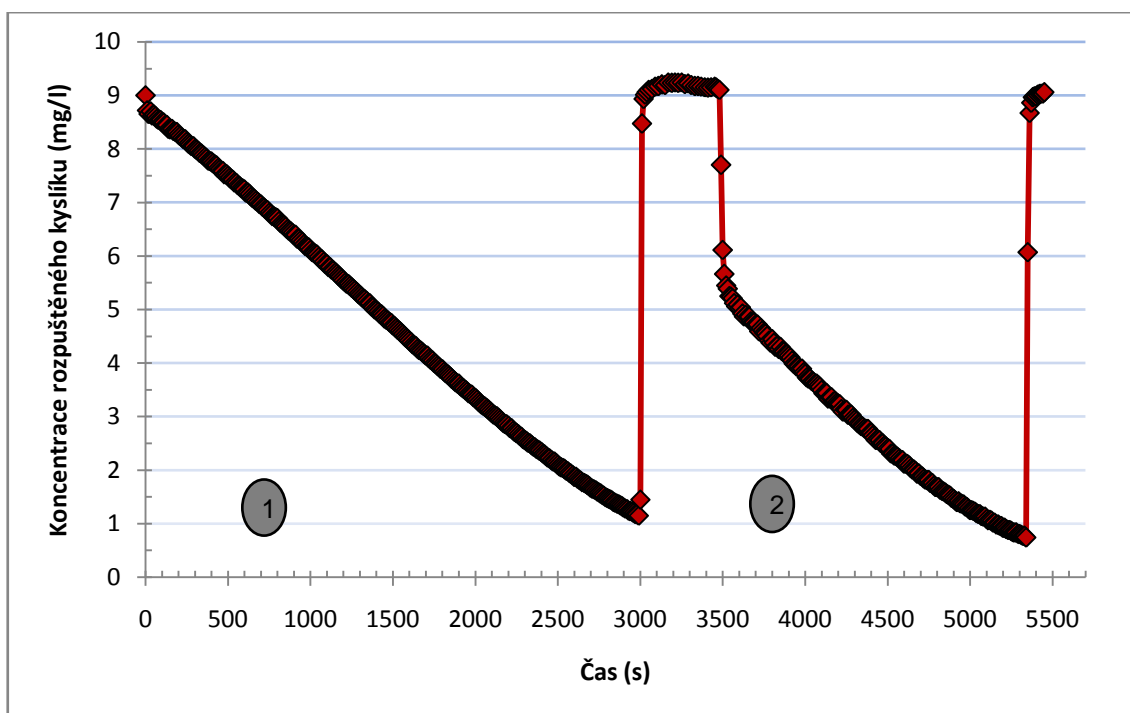
Hodnoty respirace se dle předpokladu velmi liší (viz tab.5). Zajímavé však je, že nejnižší respirace byla naměřena u reaktoru II a nikoli u reaktoru I, u kterého to bylo předpokládáno, neboť má nejmenší specifický povrch i nejnižší množství sušiny. Tento výsledek je patrný i z grafů zachycujících průběh měření (obr.31 a 32).

Tab.5: Hodnoty objemové respirace a sušiny pro fixní reaktory

datum	reaktor	nosič	1	2	průměr
7.5.2012	I	tkanina	12,591	16,920	<b>14,756</b>
	II	tkanina	9,257	9,360	<b>9,309</b>
	III	tkanina	19,048	20,678	<b>19,863</b>
10.5.2012	I	sušina (g)	0,341	-	<b>0,341</b>
	II	sušina (g)	0,425	-	<b>0,425</b>
	III	sušina (g)	0,583	-	<b>0,583</b>



Obr.31: Průběh měření respirace reaktoru I, 45.den kolonizace



Obr.32: Průběh měření respirace reaktoru II, 45.den kolonizace

## Závěr

Cílem práce bylo navrhnout a vytvořit nosiče biomasy s nanovláknennou aplikací a následně pomocí laboratorních experimentů ověřit, zda jsou vhodné pro praktický přístup biologického čištění odpadních vod. Za tímto účelem byla provozována sada biofilmových reaktorů s nanovláknennými nosiči a zároveň s nimi reaktor s komerčně dostupnými nosiči AnoxKaldnes. Sledovány byly chemické parametry reaktorů v podobě CHSK, konduktivity a hodnoty pH, které odrážely podmínky prostředí v reaktorech. Dále byly prováděny analýzy hodnocení bakteriálního růstu v podobě měření optické denzity, stanovení sušiny a respiračních testů.

Z provozu laboratorních testů bylo zjištěno, že nanovláknenné nosiče jsou efektivním nosičem biofilmu. Vytváří stejně výhodné prostředí pro jeho tvorbu jako komerčně používané AnoxKaldnes. Bakterie jsou zde schopné odolat i vysoké koncentraci CHSK (až 45 000 000 mg/l/den) a vykazují mírně vyšší stabilitu účinnosti degradačního procesu. To je pravděpodobně způsobeno tím, že bakteriální kultura zde za stejnou dobu kolonizace tvoří mocnější biofilm. Z respiračních testů je zřejmé, že aktivita mikroorganismů dosahuje u všech reaktorů podobných hodnot. Efektivita degradace polutantů je též pro všechny reaktory obdobná.

Nosiče s nanovláknennou aplikací se ukázaly jako vhodné a efektivní pro biologické čištění odpadních vod. Jako nejzajímavější se jeví nosič typu „tlustý nanosoudek“, který má nejhladší průběh výstupní křivky CHSK a též největší respirační aktivitu ze všech nosičů s nanovláknennou aplikací. Pravděpodobně tak vytváří nejprůzračnější prostředí pro mikroorganismy ze všech testovaných nosičů, rovněž se jedná o vysoce stabilní strukturu, která bude schopna odolávat nepříznivým podmínkám v praktických aplikacích (mechanické, fyzikální i chemické).

Perspektiva nanovláknenné technologie spočívá ve větší stabilitě a odolnosti zachycené bakteriální kultury k prudším změnám v okolním prostředí. Tyto vlastnosti by mohly vést k efektivnějšímu čištění odpadních a průmyslových vod, neboť na reálných ČOV jsou výkyvy v koncentraci polutantu a havarijní stavy běžné. Otázkou však zůstává, nejsou-li nanovláknena díky svému malému rozměru toxická pro vyšší organismy a nemají-li tendenci k bioakumulaci. Další testy vztahující se k praktickému uplatnění nanovláknenných technologií v environmentální oblasti tak budou probíhat i nadále.

## Literatura

- [1] DONG, Z., et al. Treatment of oilfield wastewater in moving bed biofilm reactors using a novel suspended ceramic biocarrier. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, vol. 196, p. 123–130. ISSN 0304-3894. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2011.09.001.
- [2] CARVALHO, C., et al. The remarkable *Rhodococcus erythropolis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2005, vol. 67, no. 6, p. 715–726. Dostupné z: <<http://www.springerlink.com/content/2xdh2td35bc8kjk5/fulltext.pdf>>. DOI: 10.1007/s00253-005-1932-3.
- [3] JANDEKOVÁ, R. *Bioremediační technologie pro odstranění toxických látek z vodného prostředí: bakalářská práce*. Brno: Masarykova univerzita, 2006.
- [4] KŘIKLAVOVÁ L., et al. Nanovláknenné materiály jako nosiče biomasy, Řešení extrémních požadavků na čištění odpadních vod, 24.-25.2.2011, Blansko; ISBN 978-80-7399-286-6, 2011.
- [5] KŘIKLAVOVÁ L., et al. The use of composite fibers for production of biomass carriers, BioMicroWorld2011 - IV International Conference on Environmental Industrial and Applied Microbiology, 14. - 16. 09. 2011, Málaga, Spain; ISBN 978-80-87294-18-5.
- [6] LE NOIR, M. The Concept of MBBR Process for Water and Sewage Treatment. [online]. 2011 [cited 2012-05-02]. Dostupné z: <<http://dc364.4shared.com/doc/F4TLMedb/preview.html>>.
- [7] McQUARRIE, J. P., et al. Moving Bed Biofilm Reactor Technology: Process Applications, Design, and Performance. *Water Environment Research*, 2011, vol. 83, p. 560–575. ISSN: 1061-4303.
- [8] ØDEGAARD, H.; et al. The influence of carrier size and shape in the moving bed biofilm process. *Water Science and Technology*, 2000, vol. 41, p. 383–391.
- [9] RASMUSSEN, V. The Kaldnes Moving Bed™ biofilm process. Norway 2011
- [10] REJMAN, M. *Určení technologických parametrů fluidního bioreaktoru s využitím „nanobambulí“ jako nosiče biomasy: diplomová práce*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2009.

- [11] RUSTEN, B., et al. Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacultural Engineering*, 2006, vol. 34, no. 3, p. 322–331. ISSN: 0144-8609.
- [12] SCHINDLER, J. Ze života bakterií. 1. st. ed. Praha: Academia, 2008. ISBN 978-80-200-1666-9.
- [13] AnoxKaldnes. *Our history* [online] [cited 2012-03-15]. Dostupné z: <<http://www.anoxkaldnes.com/Eng/c0company0/history.htm>>.
- [14] AnoxKaldnes™ MBBR. *Technologie AnoxKaldnes™ MBBR* [online]. [cited 2012-05-01]. Dostupné z: <<http://www.veoliawaterst.com/mbbr/cz/>>.
- [15] AnoxKaldnes™ MBBR. *Technologie AnoxKaldnes™ MBBR - nosiče* [online] [cited 2012-03-20]. Dostupné z: <<http://www.veoliawaterst.com/mbbr/cz/carriers.htm>>.
- [16] Transgalactic Ltd. *What Is Biofilm?* [online] [cited 2012-04-27]. Dostupné z: <[http://www.bionewsonline.com/n/what\\_is\\_biofilm.htm](http://www.bionewsonline.com/n/what_is_biofilm.htm)>.
- [17] Veolia Water Solutions & Technologies. *Activated sludge, efficient when it works* [online] [cited 2012-04-07]. Dostupné z: <<http://www.anoxkaldnes.com/Eng/c1prodc1/activated.htm>>.
- [18] WTW. Katalog Měřicí technika pro laboratoře a životní prostředí 2011. Dostupné z: <<http://www.wtwcz.com/index.php?s=3>>.
- [19] Informační leták ke kyvetovým testům COD Hach Lange.
- [20] Informační leták ke kyvetovým testům k určení fenolů Hach Lange.